Zemann 4244
Überreicht vom Verfasser
WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welTROmec
Call pam
No. QX 135
1913
Z66u

Archiv

für

Schiffs- und Tropen-Hygiene,

unter besonderer Berücksichtigung der

Pathologie und Therapie

unter Mitwirkung

DES INSTITUTS FÜR SCHIFFS- UND TROPENKRANKHEITEN IN HAMBURG

und von

Prof. Dr. E. von BAELZ, Stuttgart, Dr. RUD. BASSENGE, Berlin, Dr. P. van BRERO, Haag, Prof. Dr. L. BRIEGER, Berlin, Prof. Dr. A. BRODEN, Brüssel, Prof. Dr. ALB. CALMETTE, Lille, Prof. Dr. ALDO CASTELLANI, Colombo, Prof. Dr. ADOLF DIEUDONNÉ, München, Dr. K. A. DOHRN, Hannover, Exz. Geh. Rat Prof. Dr. PAUL EHRLICH, Frankfurt a. Main, Dr. A. EYSELL, Cassel, Prof. Dr. A. FIRKET, Lüttich, Dr. R. FISCH, Basel, Prof. Dr. FR. FÜLLEBORN, Hamburg, Dr. MAX GLOGNER, Radebeul, Dr. MAX JOSEPH, Berlin, Dr. H. KÖNIG, Berlin, Prof. Dr. WILH. KOLLE, Bern, Prof. Dr. H. KOSSEL, Heidelberg, Dr. M. KRAUSE, Berlin, Dr. G. C. LOW, London, SIR PATRICK MANSON, London, Dr. MARTIN, Makassar, Prof. Dr. ERICH MARTINI, Tsingtau, Dr. M. MAYER, Hamburg, Dr. MONCORVO, Rio de Janeiro, Prof. Dr. P. MÜHLENS, Hamburg, Prof. Dr. R. O. NEUMANN, Gießen, Prof. Dr. B. NOCHT, Hamburg, Dr. G. H. NUTTALL, Cambridge, Dr. H. E. M. OTTO, Hamburg, Dr. E. PFISTER, Kairo, Prof. Dr. A. PLEHN, Berlin, Prof. Dr. RHO, Venedig, Dr. ERNST ROTHSCHUH, Aachen, Geh. Rat Prof. Dr. MAX RUBNER, Berlin, Prof. Dr. R. F. RUGE, Kiel, Dr. H. SCHELENZ, Cassel, Prof. Dr. CLAUS SCHILLING, Berlin, Prof. Dr. EMIL STEUDEL, Berlin, Prof. Dr. G. STICKER, Bonn, Dr. R. P. STRONG, Manila, Dr. PAUL G. WOOLLEY, Cincinnati (Ohio), Prof. Dr. HANS ZIEMANN, Berlin,

mit besonderer Unterstützung der

DEUTSCHEN KOLONIAL-GESELLSCHAFT

herausgegeben von

Prof. Dr. **C. Mense**, Cassel.

TROPICAL DISEASES BUREAU LIBRARY
TROPICAL DISEASES BUREAU RECEIVED 20 JUL 1913

Sonderabdruck

Leipzig.
Verlag von Johann Ambrosius Barth.
Dörrienstraße 16.

Beihefte zum Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene in zwangloser Folge erscheinend. Jedes Heft ist einzeln käuflich. Der Preis der Hefte richtet sich nach dem Umfang. **Die Beihefte** bringen monographische Darstellungen über verschiedene den Tropenarzt interessierende Themata. Sie wollen das Archiv selbst entlasten, andererseits ermöglichen, daß größere Arbeiten ungeteilt veröffentlicht werden können. Sie erscheinen nach Bedarf und sind einzeln käuflich. Bei Bezug sämtlicher Beihefte eines Jahrganges wird ein ermäßigter Preis eingeräumt.

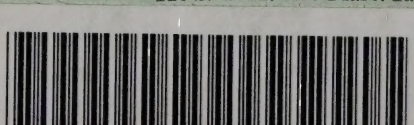
Beihefte zu Band XI, 1907 (280 S. m. 9 Tafeln) . . . . . Preis M. 11.—.
Beihefte zu Band XII, 1908 (436 S. m. 33 Tafeln) . . . . . Preis M. 18.—.
Beihefte zu Band XIII, 1909 (501 S. m. 18 Tafeln) . . . . . Preis M. 18.—.
Beihefte zu Band XIV, 1910 (721 S. m. 15 Tafeln) . . . . . Preis M. 22.—.

Die Beihefte zu Band XV, 1911 (521 S. m. 37 Tafeln, Preis M. 21.40) enthalten:

1. **Die Pest in Deutsch-Ostafrika im Jahre 1909.** (Amtlicher Bericht.) 28 S. mit 3 Taf. u. 2 Anlagen. 1911. Einzelpreis M. 1.25.
2. **Die v. Pirquetsche kutane Tuberkulinreaktion bei den Farbigen Deutsch-Ostafrikas** (Peiper). 26 S. 1911. M. 1.—.
3. **Ueber die kakke- (beriberi-) ähnliche Krankheit der Tiere** (Shiga und Kusama). 40 S. m. 1 Taf. 1911. M. 1.75.
4. **Tsingtau.** Ein kolonialhygienischer Rückblick auf die Entwicklung des Deutschen Kiautschougebietes (Uthemann und Fürth). 39 S. 1911. M. 1.75.
5. **Die rassenpsychiatr. Erfahrung. u. ihre Lehren** (Révész). 194 S. 1911. M. 4.50.
6. **Die spezifischen Veränderungen der Haut der Hände u. Füße bei Frambösie, mit einigen allgemeinen Bemerkungen zur Frambösie u. ihren Späterscheinungen** (Baermann). 23 S. m. 27 Tafeln u. Tafelerklärungen. 1911. M. 8.—.
7. **Ueber das endemische Vorkommen von Mikrofilaria nocturna in Japan** (Mine). 28 S. mit 4 Taf. 1911. M. 2.50.
8. **Grundzüge der kolonialen Eingeborenenhygiene** (Külz). 95 S. 1911. M. 3.—.
9. **Die Ätiologie des Granuloma venereum** (Flu). 15 S. mit 1 farb. Tafel. 1911. M. 1.50.
10. **Die Versorgung tropischer Schutzgebiete mit Kuhpockenimpfstoff. Erfahrungen und Versuche** (Voigt). 29 S. mit 1 Tafel. 1911. M. 1.50.

Die Beihefte zu Band XVI, 1912 (742 S. m. 23 Tafeln, Preis M. 20.40), enthalten:

1. **Verhandlungen der Deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft.** 4. Tagung (Dresden vom 17.—20. September 1911). 205 S. mit 2 farbigen und 6 schwarzen Tafeln u. 48 Textabb. 1912. Einzelpreis M. 7.50.
2. **Ueber das Verhalten der Leukozyten im Blute Malariakranker lange Zeit nach dem Fieberabfall** (Scherschmidt). 53 S. 1912. Einzelpreis M. 2.—.
3. **Tropenärztl. Erfahrungen aus dem Innern Südamerikas (bolivianisches Acregebiet)** (Walbaum). 25 S. 1912. Einzelpreis M. 1.—.
4. **Verhandlungen der Deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft.** 5. Tagung (Hamburg vom 3.—6. April 1912). 218 Seiten mit einer Karte und 28 Textabbildungen. 1912. Einzelpreis M. 6.—.
5. **Die Assanierung der javanischen und chinesischen Arbeiterbestände der dem Serdang-Doctor-Fond, Deli-Sumatra, angeschlossenen Pflanzungsgebiete (Anchylostomiasis, Amöben- und Bazillendysenterie, Syphilis, Malaria, Typhus, Pneumonie, epidemische Zerebrospinal-Meningitis)** (Baermann). 32 S. mit 11 Tafeln. 1912. Einzelpreis M. 2.—.
6. **Ueber den Infektionsmodus der Ankylostomiasis in Deutsch-Ostafrika** (Peiper). 34 S. 1912. Einzelpreis M. 1.—.
7. **Ueber den Einfluß der Behandlung des Reises auf die Beriberi und die daraus entstehenden Fehlerquellen bei der Beobachtung** (Schüffner und Kuenen). 30 S. 1912. Einzelpreis M. 1.—.
8. **Bericht über die Reise zur Erforschung und Bekämpfung der Pocken in Togo im Auftrage des Reichskolonialamts** (Paschen). 35 S. 1912. Einzelpreis M. 1.—.
9. **Beiträge zur Pathologie der Eingeborenen von Kamerun** (Löhlein). 110 S. 1912. Mit 4 farb. Tafeln. Einzelpreis M. 4.—.


22200127785

Sonder-Abdruck aus
„Archiv für Schiffs- und Tropen-Hygiene“
Band 17, 1913.
Verlag von Johann Ambrosius Barth in Leipzig.

(Aus dem patholog. Museum der Universität Berlin. Leiter: Geh. Rat Orth.)

Über die Kultur der Malariaparasiten und der Piroplasmen (Piroplasma canis) in vitro.

Von

Prof. H. Ziemann, Charlottenburg.

(Mit 2 farbigen Tafeln und 2 Kurven.)[1])

I. Kultur der Malariaparasiten.

Schon früher hatten die Malariaforscher versucht, die Malariaparasiten auch außerhalb des Organismus im menschlichen Blut weiterzuzüchten. Es gelang indes keinem der Forscher, eine Fortpflanzung zu erzeugen. Alle dahingehenden Behauptungen haben sich noch stets als durch die früheren mangelhaften Färbungsmethoden bedingte Selbsttäuschung erwiesen. Laveran (1) ist es demnach höchstens gelungen, die Parasiten eine Zeitlang zu konservieren, ohne aber Beweise dafür zu geben, daß eine Vermehrung stattfand. Coronado (2), dessen lebhafte Phantasie ihn ja auch seinerzeit Malariaparasiten im Wasser erblicken ließ, will auch diese Parasiten aus dem Wasser herangezüchtet haben. Wir dürfen ruhig sagen, daß diese Behauptung jeder wissenschaftlichen Basis entbehrt.

Auch F. Plehn (3) gibt an, eine weitere Entwicklung der Malariaparasiten außerhalb des Organismus beobachtet zu haben. Ich habe ähnliche Versuche sowohl im hängenden Tropfen wie unter Anwendung des geheizten Mikroskopes angestellt, aber ohne eine einwandfreie Vermehrung erzielen zu können. Die Phagozytose setzt bald ein, und meine Bemühungen, durch Sedimentieren des Malariablutes leukozytenarme Schichten zu bekommen, blieben unbefriedigend.

Auch die Angaben einer Anzahl anderer Autoren [cf. Thayer (4)] über erfolgreiche Kultivierung der Parasiten haben nicht bestätigt werden können.

Ich selber hatte Malariaparasiten in Blutegeln, die ich Malaria-

[1]) Wegen der mühseligen Herstellung der Reproduktionen nach den Lumière-Mikroaufnahmen konnten die Tafeln nicht rechtzeitig gebracht werden und werden daher später erscheinen.

patienten zum Saugen angesetzt hatte, auch tagelang weiter färberisch verfolgen, aber keine Vermehrung finden können (5).

In einem Falle von Quartana, bei dem das Blut zur Zeit des Blutsaugens mehr oder weniger ausgebildete Teilungsformen zeigte, waren nach 24 Stunden die im Blutegelblut befindlichen Teilungsformen schon etwas blasser, teils noch erhalten, nach dreimal 24 Stunden die erwachsenen bzw. Teilungsformen bereits etwas glasig, nach fünfmal 24 Stunden die Parasiten hyalin, teils nicht mehr zu erkennen. Pigment klumpig, meist in 4—5 deutlichen Klümpchen, welche nach siebenmal 24 Stunden im Blutegelblut nicht mehr mit Sicherheit nachzuweisen waren.

Bei Tertianablut, welches zur Zeit der Blutentnahme eine Anzahl halberwachsener und Teilungsformen enthielt, nach 24 Stunden folgender Befund:

Parasiten zum Teil etwas glasig, noch endoglobulär, Chromatin gut, Protoplasma bei einem Teil der Parasiten kaum färbbar.

Nach zweimal 24 Stunden nur noch Pigment erkennbar, im gefärbten Präparat nicht mehr nachweisbar.

Bei Malariaperniziosa: Blut entnommen im Fieberanfall, zeigt eine Menge endoglobulärer Parasitenringe; im Blutegelblut nach 24 Stunden Parasiten scheinbar noch gut erhalten, Chromatin noch gut färbbar.

Nach zweimal 24 Stunden die ringförmigen Parasiten zum Teil schon extraglobulär, Chromatin meist in Körnchenform, Protoplasmafärbung schon weniger deutlich.

Nach dreimal 24 Stunden Mehrzahl der Parasiten extraglobulär, Chromatin körnchenförmig, Protoplasma kaum färbbar, Ringform ersetzt durch Scheibenform.

Nach fünfmal 24 Stunden Parasiten extraglobulär, nur noch rundliche Chromatinkörner mit Sicherheit zu erkennen.

Nach sechsmal 24 Stunden Parasiten alle extraglobulär, Protoplasma nicht mehr nachweisbar.

Aus diesen Versuchen ging hervor:

1. daß die Parasiten sich größtenteils bis 24 Stunden im Blutegel konservieren lassen, ohne sich scheinbar morphologisch zu verändern;

2. daß eine Weiterentwicklung innerhalb des Blutegels nicht stattfindet, im Gegenteil von einem bestimmten Zeitpunkt an ein degenerativer Prozeß eintritt;

3. daß das Chromatin länger färbbar bleibt als das Protoplasma des Parasiten;

4. daß die jungen Parasiten des Perniziosatyps nach dreimal 24 Stunden anfangen, ein extraglobuläres Dasein zu führen.

Nach meinen früheren Beobachtungen nimmt der Malariaparasit, selbst bei Aufbewahrung des infizierten Blutes im Brutschrank bei 37°, bald eine rundliche Form an. Die amöboide Beweglichkeit erlischt sehr bald, während die Pigmentbeweglichkeit in den Gameten, speziell in den Perniziosagameten, sich 12 Stunden,

in manchen Fällen sogar länger, halten kann. Ich habe seinerzeit in einem Fall von Perniziosa in Grosseto noch 24 Stunden nach dem Tode lebhafte Pigmentbeweglichkeit in den Gameten beobachten können. In diesem Zusammenhange sei noch erwähnt, daß auch die Befunde Schaudinns (6), der das Eindringen der Malariasichelkeime (Sporozoiten) in die roten Blutkörper und ihre Umwandlungen zu Schizonten unter dem geheizten Operationstisch, also außerhalb des menschlichen Organismus, beobachtet hatte, bisher noch keine Bestätigung gefunden haben[1]).

Da berichtete Bass (7) am 2. November 1911 in dem Journal of the American Medical Association und am 15. November 1911 (8) im Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Bd. 14, Nr. 22, daß er Malariaparasiten erfolgreich hätte kultivieren können, und zwar 29mal den Perniziosa-, 6mal den Tertiana-, 1mal den Quartanaparasiten, den Perniziosaparasiten sogar schon in vier Generationen. Ich will hier nicht näher auf die theoretischen Erörterungen von Bass in seiner ersten Mitteilung eingehen und nur erwähnen, daß nach Bass die Bakterien und Blutprotozoen, wenn man dieselben außerhalb des Organismus im Blut zu konservieren versucht, durch das sich dann bildende Komplement in Verbindung mit den entsprechenden Ambozeptoren zerstört werden. Diese Ambozeptoren bilden sich in jedem Organismus bekanntlich als spezifische Reaktionsprodukte desselben gegen die eingedrungenen Krankheitskeime, mögen sie bakterieller oder tierischer Natur sein. Dieselben können mäßiger Erwärmung, bis auf 56° C, widerstehen. Ohne diese Ambozeptoren kann auch das Komplement nicht zerstörend auf die Krankheitskeime wirken. Nun kann man aber nach Bass das Komplement durch jede Temperaturerhöhung über normale Körpertemperatur hinaus zerstören, bei einer Temperatur von 40° in 13—30 Minuten. Würden wir aber das betreffende Medium (sagen wir eine Kultur von Blutprotozoen oder Bakterien im Blut) bei 37° oder etwas darunter halten, so würde sich das Komplement in wenigen Stunden entwickeln und in Verbindung mit den Ambozeptoren die Krankheitskeime zerstören, wodurch eine erfolgreiche Kultur der letzteren unmöglich wird. Auch wenn man die betreffende Kultur zwischen 38 und 40° hielte, könnte man die Bildung des Komplements ganz oder größtenteils verhindern und damit eine Kultur der in Frage kommenden Krankheitskeime ermöglichen.

[1]) Man wird diese Versuche auf Grund der weiter unten zu schildernden Experimente mit Malariadextroseblut wieder aufnehmen müssen.

Wir werden später sehen, daß diese Spekulationen nur zum Teil zutreffend sein dürften.

Ich erfuhr von den Bassschen Befunden durch Zufall erst im August 1912 aus einer kurzen Notiz über dieselben in der Zeitschrift Malaria e Malattie dei Paesi Caldi. Der Herausgeber dieser Zeitschrift, Gabbi, schrieb mir auf meine Anfrage, daß er ebenfalls Malariaparasiten hätte kultivieren können, ohne aber irgend welche näheren Mitteilungen zu machen, so daß diese Mitteilung nach dem in der Literatur üblichen Brauch nicht als Bestätigung für Bass gelten kann. Bass schickte mir dann zur Prüfung seiner Angaben Präparate von Perniziosaparasiten, bei denen ich die ganze Entwicklung in vitro verfolgen konnte, was bekanntlich bei Perniziosa im peripheren Blute nicht möglich ist, da die Siegelringformen, wenn sie anfangen sich zu pigmentieren, fast immer aus dem Blute verschwinden, um in inneren Organen weiter ihre Entwicklung durchzumachen. Es gelang dabei, einige weitere Beobachtungen zu machen, die Bass noch nicht mitgeteilt hatte (11).

Im Oktober 1912 veröffentlichten Bass und Johns (12) im Journal of experimental Medicine ausführlicher die Methode der künstlichen Kultivierung der Malariaparasiten.

Basssche Methode der Malariaparasitenkultur.

Dieselbe besteht, um es kurz zu wiederholen, darin, daß man einem Malariker mit einer langen, sterilen Nadel 10 ccm Blut aus der Ellbogenvene entnimmt, es mit 0,1 ccm einer 50%igen Dextroselösung vermischt, defibriniert und aufrecht in den Brutschrank bei 40° stellt. Das Serum trennt sich dann von dem Blutkörperchensediment, worauf sich die Parasiten in einer dünnen Schicht direkt unter der Oberfläche der Blutkörperchensedimentschicht bis zur Sporulation weiter entwickeln. Die betreffende Serumschicht muß mindestens 2,5 cm Höhe betragen. Die freigewordenen jungen Merozoiten werden, wenn sie beim Austritt aus dem Mutterparasiten nicht gleich ein rotes Blutkörperchen in der Nähe finden, von dem Serum aufgelöst bzw. von den weißen Blutkörperchen phagozytiert. Es ist daher notwendig, wenn man Subkulturen erreichen will, das Malariablut in Zentrifugengläsern vorsichtig so lange zu zentrifugieren, bis die weißen Blutkörper aus der Tiefe in die Höhe getrieben sind. Wenn man dann aus der Mitte bzw. Tiefe des Zentrifugenröhrchens das Malariablut mit der Pipette entnimmt und auf den Boden eines Röhrchens Dextrose-Menschenblutserum enthalten-

den Röhrchens überträgt, ist die Weiterentwicklung bei 40° C gesichert. Bass gibt fernerhin noch ganz detaillierte Angaben über seine Technik, auch hinsichtlich Größe und Weite der Instrumente. Wir werden aber noch sehen, daß sehr wohl Modifikationen möglich sind.

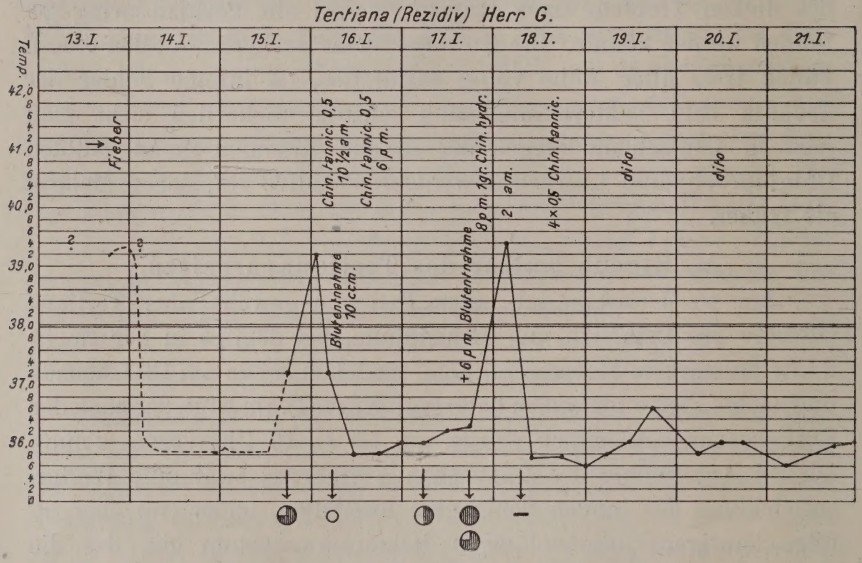
Eigene Versuche der Malariaparasitenkultur (13 und 14).

Versuche, hier selber Malariafälle zur Nachprüfung zu erlangen, waren leider zunächst ohne Resultat, da die betreffenden Patienten bereits Chinin genommen hatten, der Blutbefund daher negativ war und nur in zwei Fällen bei Anwendung der Methode des dicken Tropfens nach langem Suchen ein Perniziosaring gefunden werden konnte. Die Kulturversuche verliefen in allen diesen Fällen trotz aller Mühe völlig resultatlos, da infolge Fehler der Technik bald Bakterienwachstum eintrat. Sicherlich sieht man jetzt in Deutschland wegen der in den Kolonien meist geübten Chininprophylaxe überhaupt weniger Rezidive tropischer Malaria als früher.

A. Eigene Kultur des Tertianaparasiten.

Am 15. I. bekam ich einen Fall von gewöhnlicher Tertiana (Rezidiv aus Ostafrika) zur Behandlung, bei dem es in der Nacht 2 Uhr zu starkem Fieberanfall kam, nachdem schon am 13. I. abends und nachts Fieber bestanden hatte (vgl. Kurve I). Im Blut, das nach der Entfieberung entnommen wurde, am 16. I., 10 Uhr vorm., konnte ich bei Anwendung des Bassschen Verfahrens zwar eine Weiterentwicklung der jungen Schizonten feststellen, leider trat aber infolge häufiger Untersuchungen Bakterienwachstum ein, das die Parasitenkultur vernichtete. Erneute Blutentnahme am 17. I., 6 Uhr nachm., als im peripheren Blute $^2/_3$- und vollerwachsene Parasiten sich zeigten. Ich habe dann in der Kultur die Entwicklung von $^2/_3$- bzw. ganz erwachsenen Tertianaparasiten bis zur Sporulation, und dann in der zweiten, allerdings schon minder zahlreichen Generation wieder bis zur erneuten Sporulation und zur Bildung wieder neuer junger Schizonten verfolgen können. Bereits Bass hatte erklärt, daß die Kultur der Tertianaparasiten weit schwieriger sei als die der Perniziosaparasiten. Meine Kulturtertianaparasiten unterscheiden sich in nichts von denen des peripheren Blutes und bedingten dieselbe prachtvolle Schüffnersche Tüpfelung. Tertianagameten, die schon im peripheren Blute vorhanden waren,

zeigten sich noch am Abend des 20. I., nachdem in den Kulturröhrchen meist schon Bakterienwachstum begonnen hatte, während die Schizonten infolge des Bakterienwachstums bereits verschwunden waren. Es würde das auch mit der Beobachtung von Bass übereinstimmen, wonach rote Blutkörper mit endoglobulären Gameten resistenter gegen schädliche Einwirkungen wären als solche mit endoglobulären Schizonten. Wenn es nicht gelang, diese Kultur noch bis zur Sporulation der dritten Generation und darüber hinaus zu züchten, so lag der Grund eventuell auch in der während des Transportes des Malariablutes erfolgten Abkühlung des Blutes



Kurve I.

bzw. daran, daß ich dem bejahrten, leberkranken Patienten bereits vor der zweiten Blutentnahme am 16. I. Chininum tannicum, 1 g, gegeben hatte. Hätte es sich um einen kräftigen, relativ immunen Neger gehandelt, hätte man gleichzeitig den Befund im Patienten- und Kulturblut weiter verfolgen können. Bezüglich Technik und Entwicklungsstadien vgl. unten. Bemerkt sei, daß bei Kontrollversuchen schon damals sich ein stärkerer Dextrosezusatz, als Bass empfiehlt, als vorteilhaft erwies (8 statt 10 ccm Blut auf 0,1 ccm 50%ige Dextrose, 0,85 NaCl-Lösung). — Dieser Fall wurde mit Präparaten demonstriert im Verein für innere Medizin in Berlin am 3. II. 1913. Betr. Details vgl. Nr. 13 und 14.

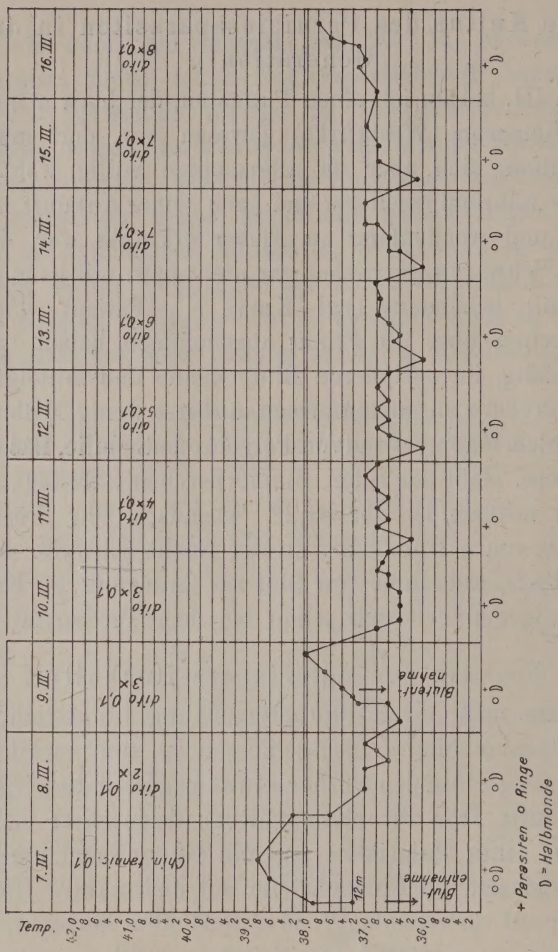
B. Eigene Kultur des Perniziosaparasiten in dreifacher Generation[1]).

Am 7. III. bekam ich einen Patienten, der bis vor kurzem zwei Jahre in Kamerun (Westafrika) gewesen war, dort mehrfach an Fieber gelitten, sich aber im allgemeinen völlig wohl befunden hatte, indes während der Reise und nach seiner Ankunft in Deutschland tage- und wochenlang an Fieber erkrankt war, das er aus Furcht vor Schwarzwasserfieber gar nicht bzw. mit ganz schwachen Dosen Chinin behandelte (vgl. Kurve II). Patient wollte in den letzten Wochen über 30 Pfund abgenommen haben. Allgemeinbefinden mäßig, im peripheren Blute kleine und mittelgroße Ring- und etwas größere Siegelringformen, äußerst wenig Halbmonde. Im Blute außerdem mäßiger Grad von Polychromatophilie, Basophilie und Anisozozytose. Zahl der roten Blutkörperchen 2234000, Hb. 60%. Temperatur mittags 12 Uhr 37,2°. Abends 6 Uhr Frösteln, Temperatur 38,6, um 8 Uhr 38,8°. In der Nacht Schweiß. Am 7. III., 12 Uhr mittags, Entnahme von Blut zur Anlegung der Kultur nach folgender allgemeiner, auch schon bei dem Tertianafall erprobter

Technik der Malariaparasitenkultur.

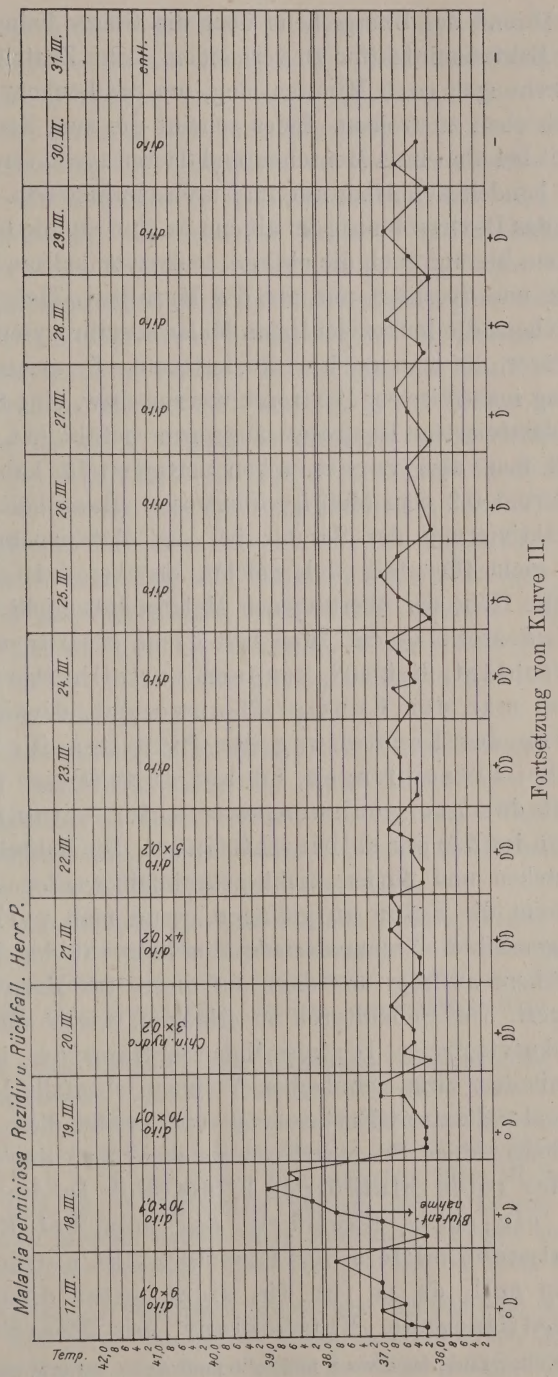
Nachdem man durch Blutuntersuchung festgestellt, daß Neigung zur Spontanheilung ausgeschlossen ist, und nachdem Patient am besten einige Stunden vorher etwas gegessen hat (vgl. darüber auch Abschnitt über Piroplasmakultur), desinfiziert man die Ellbogengegend eines Malarikers, legt ein Gummiband um den Oberarm und bepinselt die Einstichstelle mit Jodtinktur. Hierauf Einstich einer prall vortretenden Vene mittels einer längeren, am besten etwas gebogenen, sorgfältig sterilisierten, nicht zu engen Kanüle. Dieselbe darf nicht zu eng sein, schon um eine Blutgerinnung zu vermeiden und ferner, weil eine zu enge Passage der Blutkörper auch für die Parasiten schädlich ist. Hierauf läßt man das Blut in einen graduierten, schräg gehaltenen Zylinder mit möglichst enger Öffnung an der Wand herunterlaufen, wobei man das Blut möglichst wenig mit der Luft in Verbindung bringt. Dann defibriniert man mit sterilem abgekühltem Glasstabe und entfernt das Fibrin. Man muß sich dabei hüten, Luftblasen zu erzeugen. Entnimmt man, wie Bass, das Blut mit einer Spritze, erhält man, wenn man nicht die sehr teuren größeren Spritzen nimmt, zu wenig Blut für die Ver-

[1]) Vortrag und Demonstration in der mikrobiologischen Vereinigung, Berlin, 13. März 1913.



Kurve II.

suche. Das Blutquantum kann man von Fall zu Fall bemessen (Ängstlichkeit, Kräftezustand des Patienten usw.). Hierauf setzt man mit einer sterilen, langen, graduierten 1 ccm-Pipette, deren 0,1 Teilstriche mindestens 1 cm voneinander entfernt sind, auf je 10 ccm Blut 0,2 ccm einer möglichst frisch bereiteten, jedesmal sorgfältig sterilisierten 50%igen Dextroselösung zu, mischt und überträgt die Blutdextrosemischung auf Reagenzgläser in je ca. 5 cm hoher Schicht. Man kann dann die weitere Entwicklung der Parasiten bis zur Sporulation verfolgen (vgl. Bass' Methode, l. c.). Noch besser überträgt man die Mischung gleich in sterile Zentrifugengläser. Beim Übergießen sind die Glasränder vorher sorgfältig abzubrennen und wieder abzukühlen. Am besten läßt man sich einen



Fortsetzung von Kurve II.

Deckel während des Übergießens über die Gläser halten, um jede Pilz- und Bakterieninfektion zu vermeiden. Dann Zentrifugieren bei 800 Umdrehungen ca. 5 Minuten lang, um die Leukozyten aus der Tiefe nach oben zu treiben. Indes scheint die zum Zentrifugieren nötige Zeit bei einzelnen Menschen und Tieren recht verschieden zu sein[1]). Es handelt sich daher nur um Durchschnittswerte. Dann pipettiert man das Dextroseblutserum ab, um es eine Stunde bei 45° C zu inaktivieren, hierauf auch die oberste, leukozytenhaltige Schicht der Blutkörper und überträgt nun aus der Mitte bzw. Tiefe des Zentrifugenröhrchens die leukozytenfreien Malariaerythrozyten auf sterile Reagenzgläser, die man vorher mindestens 4—5 cm hoch mit eine Stunde lang inaktiviertem Dextroseblutserum bzw. eine Stunde lang bei 45° inaktiviertem Dextroseaszitesserum gefüllt hat. Diese Lösung muß man also vorher schon fertiggestellt haben (auf je 10 ccm Serum 0,2 ccm 50%ige Dextrose). Bass hält diese verherige Inaktivierung des Serums bei der Malariaparasitenkultur scheinbar nicht für nötig. Ich möchte sie aber dringend empfehlen. Die Höhe der übertragenen Malariablutschicht beträgt am besten mindestens ½ cm. Man hält diese Kultur nicht, wie Bass vorschlägt, bei 40°, sondern vorteilhafterweise bei 37°, wobei man den Kunstgriff anwendet, dieselbe dicht vor Beginn der Kernteilung der Parasiten in den Brutschrank bei 40° zu bringen, um auf diese Weise künstlich möglichst das nachzuahmen, was unter natürlichen Bedingungen im Körper selbst stattfindet. Die Röhrchen müssen aufrecht stehen und dürfen nicht geschüttelt werden. Am allerbesten scheint die Kultur zu gelingen, wenn man vorher leukozytenfrei gemachtes Nichtmalariadextroseblut auf den Boden des Serumröhrchens aufträgt und dann auf dieses das Malariadextroseblut auflagert. Um Subkulturen zu erlangen, mischt man ein Volumen leukozytenfreier Dextrose-Malariaerythrozyten in sterilen Pipetten mit dem zirka zehnfachen Volumen ebenfalls leukozytenfreier normaler Dextrose-Erythrozyten und breitet diese Mischung auf dem Boden eines Reagenzröhrchens aus. Auf der obersten Schicht der roten Blutkörper bildet sich in den Kulturröhrchen ein zähes Häutchen, das man bei Entnahme einer Blutprobe mittels der Pipette nicht nutzlos zuviel zerstechen soll, da es für die dicht unter dieser Oberfläche stattfindende Entwicklung der Parasiten not-

[1]) Die Kultur kann, auch wenn nicht alle Leukozyten entfernt sind, gelingen.

wendig zu sein scheint. Die darüberstehende Serumschicht muß absolut klar sein. Tritt zunehmende Hämolyse der roten Blutkörper ein, werden die Aussichten auf dauerhafte Kultur immer geringer (vgl. auch Abschnitt über Piroplasma canis). Die zur Entnahme der Blutproben verwandten Pipetten haben am besten nur ein Lumen von 1, höchstens $1^1/_4$ mm und sind möglichst dünnwandig, um schnelles Erhitzen und Abkühlen zu gestatten. Zu weite Kapillaren lassen zuviel Blutkörper aufströmen, wodurch der Zusammenhang der Kulturschicht gelockert wird. Am vorteilhaftesten, aber etwas kostspielig ist es, jedesmal möglichst neue Kapillaren zu verwenden. Erhitzt man die Kapillaren zu stark, ohne abzukühlen, sterben die Parasiten in der Blutprobe gleich ab, erhitzt man zu wenig, kommt es leicht zu Bakterieninfektion.

Nach Bass legt man die Kultur (und auch die Subkultur) am besten 3—4 Stunden vor der Sporulation an. Auf Grund meiner Erfahrungen bei Perniziosa rate ich aber (bei Perniziosa wenigstens) nicht dazu, da dann fast alle Parasiten bereits in den inneren Organen sich zur Sporulation vorbereiten, sondern empfehle, die Kultur während der Apyrexie, d. h. nach dem Anfall anzulegen, wenn schon etwas größere Ringe bzw. Siegelringformen aufzutreten pflegen.

Die Anwendung konzentrierter Dextroselösungen ist meines Erachtens empfehlenswerter als die von größeren Mengen verdünnter Lösung, da durch letztere eine zu starke Verdünnung der ganzen Blutmischung bedingt wird, wodurch ein festes Aneinanderlagern der roten Blutkörper erschwert wird.

Bevor diese Technik sich als vorteilhaft erwiesen, wurde, nachdem sich gezeigt, daß ohne Dextrose keine gute Schizogonie der Parasiten möglich war, sowohl nicht inaktiviertes wie auch inaktiviertes (eine Stunde bei 45°) Serum erprobt, und zwar menschliches Aszites-, menschliches Blut- und Pferdeblutserum.

Bass selber verwandte auch Lockesche Flüssigkeit, in der Kalziumchlorid weggelassen wurde[1]). Wie zum Teil schon bei dem Tertianafall, wurde das Blut sodann mit steigenden und fallenden Mengen von 50%iger Dextroselösung beschickt, d. h. es wurden 0,1 bzw. 0,2 ccm 50%iger Dextroselösung auf 5, 6, 8, 10 und 12 ccm Blut zugesetzt. Diese Mischungen wurden zum Teil auch mit 1- und 2%iger Natrium citricum-Lösung in steigenden und fallenden Mengen versetzt. Die Versuche wurden auch insofern modifiziert, als die Röhrchen für die Kultur teils bei Zimmer-

[1]) Lockesche Flüssigkeit besteht aus: NaCl 0,9—1,0, KaCl 0,01, $CaCl_2$ 0.02. Aq. dest. 100,0. Ein anderes Rezept lautet: NaCl 0,9, $CaCl_2$ 0,024, KaCl 0,042, $NaHCO_3$ 0,01. Vgl. Enzyklopädie f. mikroskop. Technik, 2. Aufl., 1910.

temperatur, teils bei 37°, teils bei 40° dunkel aufbewahrt wurden. Schon daraus ergibt sich die große Mannigfaltigkeit der Versuche.

In einigen Fällen glaube ich übrigens bei vergleichender Prüfung gefunden zu haben, daß bei Zusatz von 0,3 ccm 2%iger Natrium citricum 0,85 NaCl-Lösung zu 10 ccm Malariablutdextrosemischung die Kultur sich noch etwas kräftiger entwickelte, speziell bei Perniziosakultur. Darüber sind noch weitere Untersuchungen nötig. Vielleicht, daß der Säurezusatz eine Anreizung der Parasiten bedingt, wie ja auch der Säuregehalt des Mückenmagens für die Sporogonie nicht ohne Bedeutung ist. Zum Schluß rate ich, bei eventuellen Nachprüfungen (speziell auch bei der Piroplasmakultur) sich mit Engelsgeduld von vornherein zu waffnen und für peinlichste Sterilität von vornherein zu sorgen, um sich so vor häufigen Enttäuschungen zu bewahren.

Biologische und morphologische Ergebnisse der Perniziosaparasitenkultur.

Während nun Bass angibt, daß es ihm nur in den seltensten Fällen gelungen war, in ein und derselben Kultur die Entwicklung von mehr als höchstens zwei Generationen hintereinander zu finden, zeigte sich in meinem Falle von Perniziosa in den beiden Röhrchen, in denen sich Dextrosemalariablut mit inaktivierter Dextroseaszitesflüssigkeit fand, noch in sechs Tage alter Kultur eine immer wiederkehrende Vermehrung der Parasiten. Zweifellos war es in der sechs Tage alten Perniziosakultur auch zu einer deutlichen Anreicherung gekommen. Es handelte sich von vornherein um eine Perniciosa duplicata, deren erste Generation schwächer entwickelt war als die andere. Gerade dieser Umstand sollte aber leider die Schätzung über die Entwicklungsdauer einer Generation der Kulturparasiten erschweren.

Schon an anderer Stelle hatte ich mitgeteilt, daß es mir bei vielen Tausenden von Untersuchungen des peripheren Perniziosablutes in Kamerun nur ganz vereinzelt gelungen war, eine Sporulationsform im peripheren Blute zu sehen. Da ich in Kamerun in der glücklichen Lage war, noch nie einen Weißen an Perniziosa zu verlieren, die erwachsenen Eingeborenen an Malaria direkt wohl nie sterben und Sektionen von Kindern nicht gestatten, war unser Material bezüglich Sporulation nur sehr klein. Um so interessanter

war es nunmehr, in der Kultur alle die verschiedenen Entwicklungsformen zu verfolgen. Es zeigte sich, daß die Sporulationsformen der Kameruner Perniziosa sich in nichts unterscheiden von den Sporulationen aus den übrigen Tropenländern und aus Italien. Die Zahl der Merozoiten betrug meist 14—18, in der Mehrzahl der Fälle 16[1]). Die Entwicklung von einer Sporulationsform zur anderen im Brutschrank bei 37° dauerte ca. 40—48 Stunden; bei 40° C schien die Entwicklung scheinbar nicht schneller vonstatten zu gehen, wohl aber die eigentliche Sporulation kräftiger zu verlaufen, wenn man dicht vor beginnender Sporulation die Kultur aus dem Brutschrank mit 37 in den mit 40° überträgt. Eine kleinere Zahl der Parasiten schien die Entwicklung auch schon in 24—30 Stunden durchzumachen (vgl. die obige Bemerkung bez. Perniciosa duplicata).

Das Wachstum der jungen Parasiten in der Kultur ist während der ersten Hälfte der Entwicklung überhaupt langsamer, um nachher sehr viel schneller vonstatten zu gehen. Angenommen, daß die Kultur zur Zeit der Sporulation angelegt ist, zeigt sich in der 16stündigen Bassschen Kultur deutliche Siegelringbildung, in der 20stündigen erstes Auftreten grünlichschwärzlicher Pigmentkörnchen, die bald zu Klümpchen werden, während gleichzeitig der Parasit mehr und mehr Scheibchenform annimmt; in der 30stündigen Kultur erfüllt der jetzt fast stets schon scheibenförmige Parasit die roten Blutkörper zu $^1/_4$, zum Teil bereits $^1/_3$, manchmal sogar schon zur Hälfte. Das Pigment hat dann noch weiter an Menge zugenommen, während das Chromatin schon den Beginn der Auflockerung zeigt, ein Zeichen der beginnenden primitiven Mitose. Die roten Blutkörperchen zeigen, abgesehen von der bei entsprechender Färbung auftretenden Maurerschen Fleckung, jetzt noch keine Veränderung, im Gegensatz zur Tertianainfektion (vgl. Tafel I, und Erklärung dazu).

In der ca. 40stündigen Kultur erreichen die Parasiten die Größe von $^1/_2$—$^2/_3$ der roten Blutkörperchen. Die eigenartige Zerklüftung, die ich manchmal bei italienischer Malaria beobachten konnte, war weder in meinen noch in den Bassschen Präparaten zu bemerken. Indes beginnen schon jetzt die Konturen des roten

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Thomson und McLellan (22) zählten bei Perniziosakultur in Maximo 32 Merozoiten. Die Entwicklungsdauer einer Parasitengeneration schien bei ihnen ca. 24 Stunden zu betragen bei 38° C.

Blutkörperchens zu verschwinden, während gleichzeitig Chromatinteilung immer deutlicher wird in Form von dentritischen Verzweigungen.

In der 48stündigen Kultur ist die Sporulation im Durchschnitt vollendet. Die Sporulationskörper haben die Größe von $^2/_3$—$^3/_3$ der roten Blutkörper, deren Konturen jetzt schon gänzlich verschwunden sind. Charakteristisch ist die Zusammenklumpung der Sporulationskörper zu mehreren in einem Gesichtsfelde (Agglomeration). Ich habe schon in meinem ersten Aufsatz gesagt, daß, da ja auch die auf die Kultur überimpften Parasiten nicht ein gleiches Entwicklungsalter haben können, naturgemäß auch gewisse Differenzierungen in der Kultur zu bemerken sind (vgl. Tafel I).

In den mehr als 48stündigen Kulturen sind die Sporulationsformen in der großen Mehrzahl abgestorben. Man sieht nur noch den zentral gelegenen Pigmentblock und die ringsherum liegenden Merozoiten, von denen der Plasmaleib nicht mehr färbbar ist, während ihr Chromatin eine fast staubförmige Auflösung zeigt. Indes kommen anfangs auch noch alle möglichen Übergänge bis zu normal entwickelten Sporulationsformen vor, und man kann auch noch in einer etwas überalterten Kultur wieder junge, endoglobuläre Parasiten bemerken (vgl. darüber weiter unten). Im allgemeinen muß man jedenfalls nach 48 Stunden Subkulturen anlegen, da zweifellos sonst allmählich eine zunehmende Erschöpfung des Nährbodens eintritt. Ob auch die von den Parasiten produzierten eventuellen Toxine, die in der Kultur ja nicht durch den Kreislauf abgeführt werden können, dabei eine Rolle spielen, ist noch zu untersuchen (betr. Bemerkung bei Piroplasmakultur).

Hochinteressant ist auch, daß während im peripheren Blute die Infektion nur eine spärliche und nie mehr als eine einfache war, in meinen Kulturen sich nicht selten 4 bis 5fache Infektion der roten Blutkörper zeigte. Wichtig ist, daß noch in der sechs Tage alten Kultur, die nicht wenige Halbmonde, männliche wie weibliche, aufwies, sich keine Spur einer weiteren Entwicklung der vollentwickelten Halbmonde zeigte, also auch keine Andeutung einer Parthenogenese. Wie schon erwähnt, waren Halbmonde vor der Blutentnahme äußerst spärlich im peripheren Blute zu sehen. Da aber in der sechs Tage alten Kultur die Zahl der Halbmonde zweifellos größer war als im peripheren Blute, und da auch

im Kulturblut heranwachsende Gameten zu beobachten waren, hat also zweifellos auch in der Kultur eine Entwicklung von Merozoiten zu Gameten stattgefunden. Hieraus geht hervor, daß Halbmonde sich in sechs Tagen aus Merozoiten entwickeln können. In einer später noch zu erwähnenden sieben Tage alten Kultur kam es aber zu deutlichen Erscheinungen beginnender Degeneration bei manchen Halbmonden.

Es gelang, sowohl von der zwei Tage alten wie einmal auch von der vier Tage alten Kultur nach obenerwähntem Verfahren Subkulturen mit wenn auch sehr spärlicher Vermehrung der Parasiten in erster Generation zu erlangen. Übrigens zeigte, wie sich in drei Kontrollen ergab, nicht jedes Blut sich als geeignet für Anlegung von Subkulturen.

Der Patient erhielt, da Schwarzwasserfiebergefahr bestand, eine Chiningewöhnungskur, indem das Chininquantum täglich um 0,1 g (Chinin. tannic., später hydrochlor.) gesteigert wurde. Infolge der guten Verpflegung im Sanatorium und der Therapie mit wenn auch geringen Chinindosen stieg die Temperatur am 9. III., 8 Uhr abends, bei einem neuen Fieberanstiege nur auf 38° C. Auch die Zahl der Schizonten sank, während die der Halbmonde zunahm. Am 9. III., 12 m., erneute Blutentnahme behufs Kultur. Im peripheren Blute nur Halbmonde und sehr wenige Schizonten zu bemerken. Jetzt gelang es zwar, sogar noch in sieben Tage alter Kultur mehrfache Sporulation zu finden, indes war das Wachstum und die Vermehrung längst nicht so lebhaft und jedenfalls die Zahl der absterbenden Sporulationsformen größer als beim ersten Versuch, voraussichtlich, da infolge der Chinintherapie und des Sanatoriumsaufenthaltes die Virulenz der Parasiten herabgesetzt bzw. die Resistenz des Patienten erhöht war. Temperatur stets nie über 37° C. Nur am 16. und 17. III., 8 Uhr abends, 37,8°. Am 18. III., 12 Uhr mittags, bei 37,2° wiederum Blutentnahme behufs Kultur, als im peripheren Blute nur äußerst spärliche kleine Siegelringe, aber Halbmonde in ziemlicher Menge zu sehen waren. Die Entwicklung der Schizonten war in der letzten Kultur jetzt noch viel geringer als früher, eine weitere Entwicklung der Halbmonde (Parthenogenese bzw. Sporogonie) fand ebenfalls nicht statt. Die Entnahme des peripheren Blutes hatte leider etwas zu spät stattgefunden, da die Mehrzahl der Parasiten sich bereits in die inneren Organe zur Sporulation begeben hatte. Am 18. III., schon 6 Uhr nachmittags, Fieberanfall (39° C). So kam es, daß, wie schon

bei der ersten Blutentnahme, nur der geringe Rest der noch im peripheren Blute zurückgebliebenen Parasiten zur Kultur verwandt wurde, und daß erst 24 Stunden später, als die Sporulation im Patientenblut längst vorüber war, in der Kultur prachtvolle Sporulation eintrat.

Von jetzt ab zunehmende Besserung des Patienten bei Behandlung mit steigenden Chinindosen. (Vom 20. III. statt Chininum tannicum Chinin. hydrochlor., steigend bis 1 g pro die. 30. III. Halbmonde zum erstenmal verschwunden.) 31. III. Entlassung mit Weisung für weitere Chinintherapie[1]).

Zusammenfassung der Resultate bei Tertiana- und Perniziosa-Parasitenkultur.

Fasse ich meine an den oben geschilderten Fällen gemachten Befunde zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. In dem steril entnommenen Malariablut (Technik vgl. oben), von dem (bei Tertiana anfangs 8, später) 5 ccm mit $^1/_{10}$ ccm einer 50%igen Dextroselösung versetzt werden, zeigen in der Kultur die Malariaparasiten genau die morphologische und biologische Entwicklung wie im menschlichen Organismus. Die Entwicklung des Tertianaparasiten erfolgte in der Kultur bei 39,5° durchschnittlich in ca. 34—36 Stunden, nachdem allerdings ein Tag vor der Blutentnahme 1 g Chin. tannic. gegeben war, die des Perniziosaparasiten bei 37° meist in ca. 40—48 Stunden, zuweilen noch früher (vgl. l. c.), dito bei 40°, nach Bass bei 41° sogar schon in 30 Stunden. Zeitliche Unterschiede in der Entwicklung der Parasiten kommen wie im peripheren Blute vor, indem einige Parasiten sich früher, andere später entwickeln. Am besten ist, die Kultur während der Sporulation bei 40° zu halten, sonst bei 37°.

2. Neben den normalen, kräftig entwickelten Parasiten sieht man in der Kultur auch Formen mit vakuolisiertem Plasmaleibe und staubförmiger Auflösung des Chromatins, Formen, die im peripheren Blute des Patienten fast nie zu sehen sind, da sie schnell aus dem Kreislauf verschwinden. Zwischen diesen absterbenden und normalen Formen kommen alle möglichen Übergänge vor.

3. Zuweilen können diese degenerierten Formen in der

[1]) Die Untersuchung der auch später täglich angefertigten Blutpräparate ergab trotz fortgesetzter Chinintherapie (täglich 1 g Chin. hydrochl.) noch nach 14 Tagen wieder Halbmonde.

durch Chinin gar nicht beeinflußten Kultur erinnern an die Chininformen, bei denen bekanntlich eine Zerreißung und blasse Färbung des Plasmaleibes zu bemerken ist, während das Chromatin doch seine kompakte Beschaffenheit behält.

4. Alle absterbenden bzw. degenerierenden Formen werden von den Leukozyten aufgenommen. Es beteiligen sich an dieser Phagozytose in der Kultur alle Leukozytenarten, falls es nicht gelungen ist, dieselben durch besonders sorgfältiges Zentrifugieren zu entfernen. Die Folge ist, daß man in der Kultur eine derartige Menge pigmenthaltiger Leukozyten zu sehen bekommt, wie nie und nimmer im peripheren Blute.

5. Eine Konjugation junger Schizonten, wie sie seinerzeit Mannaberg und später auch Craig (15) angenommen haben, kann ich auf Grund meiner Befunde in der Kultur nicht annehmen.

6. Meine bisherigen Untersuchungen sowohl bei Tertiana wie bei Perniziosa zeigten in der Kultur keine Andeutung von Parthenogenese bzw. Ookinetenbildung. Bass und Johns glaubten eine solche in manchen Präparaten annehmen zu dürfen. Wo man in meinen Präparaten an eine solche denken könnte, kann man bis jetzt ebensogut Degenerationsvorgänge innerhalb der Gameten bzw. Schizonten annehmen.

7. Die jungen Merozoiten scheinen sich in der Tat nur kurze Zeit extraglobulär im Blutplasma aufzuhalten. Man sieht sie seinerzeit nur, wenn die Sporulation einsetzt und in der Nähe der Sporulationskörper. Halbmonde können sich schon nach 4—5 Tagen in der Kultur aus Merozoiten entwickeln.

8. Niemals sah ich in vielen Hunderten von Präparaten aus den Kulturen, daß die Parasiten von infizierten roten Blutkörperchen zu gesunden wanderten, wie es Mary Rawley-Lawson (16) annimmt.

9. Da auch in meinen Kulturen von Tertiana- und Perniziosaparasiten die charakteristischen morphologischen Unterschiede, wie sie auch bisher schon für die einzelnen Parasitenarten angenommen sind, sich wiederfanden, auch Schüffnersche Tüpfelung beim Tertiana- und Maurersche Fleckung beim Perniziosaparasiten, dürfte meines Erachtens damit endgültig die Annahme der Unitarier widerlegt sein, daß die einzelnen Malariaparasiten höchstens als Varietäten ein und derselben Art aufzufassen wären. Allerdings nehme ich noch jetzt an, trotz der jetzt festgestellten Übereinstimmung in den Sporulationsformen, daß

unter den Perniziosaparasiten selber sich mindestens zwei verschiedene Varietäten unterscheiden lassen, die Varietas africana occidentalis und die gewöhnliche Varietas tropica (vgl. meine Abhandlung über Malaria in Menses Handbuch).

10. Da ich selber noch im vorigen Jahre an einem leichten Perniziosarückfall gelitten hatte, wäre bei mir selbst Überimpfung einer lebenden Kultur bzw. Subkultur zur Prüfung der Virulenz nicht beweiskräftig gewesen. Eine subkutane Impfung mit einer abgestorbenen Perniziosakultur wegen Feststellung eventueller Toxine führte bei mir nur zu einer vorübergehenden Temperatursteigerung auf 37,8° mit leichter Rötung an der Injektionsstelle, ohne daß das Allgemeinbefinden nennenswert gestört wurde[1]).

11. Für die Annahme von Bass, daß es möglich wäre, ad infinitum die Malariaparasiten in der Kultur weiterzuzüchten, ohne daß sich eine sexuale Phase, wie sie im Anopheleskörper stattfindet, zwischenschiebt, müßten noch Beweise erbracht werden.

12. Über experimentelle Einwirkungen von Licht, Radium, Elektrizität auf die Kulturen und serologische Untersuchungen in diagnostischer Beziehung soll später noch berichtet werden.

13. Ich möchte schon jetzt vorschlagen, bei Verdacht auf latente Malaria Malariaparasitenkulturen anzulegen, um auf Grund der oben mitgeteilten Daten den Versuch zu machen, eine Anreicherung der Parasiten in der Kultur zu erzielen, um entweder die Parasiten selbst oder wenigstens pigmenthaltige Leukozyten nachzuweisen (vgl. weiter unten den bereits gelungenen ähnlichen Versuch bei Piroplasma canis).

Bedeutung der Dextrose für die Parasitenkultur.

Nach diesen Erörterungen sei noch kurz die Bedeutung der Dextrose für die Parasitenkultur erwähnt. Es ist das nötig, da ich bei Kontrollversuchen (vgl. weiter unten auch bei Piroplasma canis) immer wieder fand, daß nur der Dextrosezusatz eine wirkliche Kultur bis zur Sporulation und weitere Entwicklung darüber hinaus garantiert. Nach Bass und Johns scheint von den verschiedenen Zuckerarten, wie Sacharose, Laktose, Dextrose, Mannit und Maltose, allein Maltose ebensogut wie Dextrose die Kulturen zu ermöglichen.

Es zeigte sich ferner, nach Bass und Johns, daß Blut, 1—2 Stunden nach einer Mahlzeit entnommen, sich besser für

[1]) Vgl. im übrigen weiter unten die durchaus gelungenen Infektionsversuche mit Piroplasmakulturen.

Kulturzwecke eignete als nach langen Fastenperioden, selbst wenn man im letzteren Falle Dextrose hinzufügte. Bass und Johns bringen mit diesem Phänomen die klinische Beobachtung in Beziehung, wonach die Malariaparasiten und auch das Fieber oft verschwinden, wenn der Patient zu Bett gebracht wird und ein Abführmittel und nur leichte Diät erhält. Die Autoren glauben auch, daß Anstrengungen und Abkühlung, die oft einen Malariaanfall auslösen, dieses dadurch bewirken, daß sie die im Blute zirkulierende Dextrosemenge vermehren helfen, eine Annahme, die bisher meines Wissens noch nicht erwiesen ist. Nach Bass wäre es möglich, daß die auf die roten Blutkörperchen sich auflagernde Dextrose diejenigen Substanzen, welche für die Malariaparasiten schädlich sind, davon abhält, in die roten Blutkörperchen einzudringen. Das Serum selbst aber sei, wie schon erwähnt, ein Gift für alle freien Merozoiten und Segmentationsformen. Nach meinen bisherigen Erfahrungen wirkt aber inaktiviertes Serum ganz zweifellos weniger deletär auf jene Parasitenformen als nicht inaktiviertes. Außerdem ist meines Erachtens zu erwägen, ob nicht der Dextrosezusatz rein mechanisch die Klebrigkeit der roten Blutkörper erhöht und es dadurch den jungen Malariaparasiten erleichtert wird, an den roten Blutkörpern festzuhaften und sich weiter zu entwickeln. Ferner scheint unter einer Anzahl von pathologischen Verhältnissen (Fieber, Nephritis, Lebererkrankungen) die Zufuhr von Kohlehydraten den Dextrosegehalt des Blutes zu steigern, während beim Gesunden die Nahrungsaufnahme keine wesentlichen Änderungen im Dextrosegehalt des Blutes hervorbringt. Wir müssen uns vorstellen, daß, wenn die Leber normal funktioniert, sämtliche Kohlehydrate, die nach erfolgter Resorption im Darm der Leber zugeführt werden, dort in Glykogen umgewandelt und deponiert werden, und daß die Leber von diesem Glykogen nur soviel an die Peripherie abgibt, als dort gerade gebraucht wird, daß aber unter pathologischen Zuständen die Leber die Fähigkeit verliert, die Glykogendepots zurückzuhalten. Vgl. darüber die Arbeiten von Tachau (17) sowie von Liefmann und Stern (Biochem. Zeitschr., Bd. 1, S. 299). Wir wissen nun, daß gerade bei Malaria (und auch bei Piroplasmosis) pathologische Veränderungen in der Leber (nekrotische lokale Prozesse) eintreten können, wodurch zweifellos unter Berücksichtigung der obigen Darlegungen der Dextrosegehalt des Blutes beeinflußt werden muß.

Es ergibt sich daher die Notwendigkeit, auch bei den Malarikern dieser Frage erneute Aufmerksamkeit zu schenken und speziell die Verteilung der Dextrose auf die roten Blutkörper bzw. das Blutplasma zu studieren, um den näheren Mechanismus beim Einwirken des Dextrosezusatzes auf die malariainfizierten roten Blutkörper zu ergründen.

In diesem Zusammenhange sei ferner noch erwähnt, daß, wenn man perniziosaparasitenhaltiges Blut aus der Kulturflüssigkeit auf dem Objektträger ausstreicht, man am Ende des Ausstriches die meisten Parasiten angehäuft findet, weil die Oberfläche der Parasiten klebriger ist als die der roten Blutkörper. Infolge dieser klebrigen Beschaffenheit bleiben ja auch die Perniziosaparasiten in den Kapillaren leicht haften, um dort weiter zu gedeihen, worauf die italienischen Forscher schon aufmerksam gemacht haben. Die außerordentliche Anhäufung der Parasiten in den Kapillaren, z. B. des Gehirns, ist wohl genau so zu erklären, wie die oft starke Anhäufung der Malariaparasiten in der Kultur, wenn sie in leukozytenfreier oder -armer Schicht liegen, daß nämlich unter diesen Verhältnissen die jungen Merozoiten gleich immer fest aneinander gepreßte benachbarte rote Blutkörperchen finden.

Einfluß von Kalziumsalzen und Chinin auf die roten Blutkörper bzw. die Malariaparasiten.

Interessant ist auch, daß nach Bass und Johns Kalziumsalze in Kulturen von Perniziosaparasiten sowohl infizierte wie nicht infizierte rote Blutkörperchen hämolysieren, was sie in normalem Blute nicht täten. Bass und Johns führen dies besonders an, um die Malariahämoglobinurie oder das Schwarzwasserfieber zu erklären. Das letztere verschwände, ohne daß die Malaria selber zu verschwinden brauchte, aus Gegenden, in denen man statt des bisherigen Oberflächenwassers kalkfreies Brunnenwasser benutzt. Es ist dies eine Hypothese, die wohl noch erheblicher weiterer Prüfung bedarf und jedenfalls mit den bisherigen Tatsachen noch nicht übereinstimmt. Hat man doch Kalziumchlorid auch direkt als antihämolytisches Mittel schon therapeutisch bei Schwarzwasserfieber verwandt. Meine Versuche mit Kalziumchlorid bei den den Malariaparasiten ziemlich nahestehenden Piroplasmen, die eventuell noch stärkere Hämolyse auslösen, sind noch nicht abgeschlossen.

Zum Schlusse erklären die Autoren, daß die Chininwirkung

auf die Malariaparasiten voraussichtlich nicht direkt stattfindet, sondern dadurch, daß das Chinin die von Malariaparasiten behafteten roten Blutkörper durchgängiger macht für die schädigenden Einflüsse des Serums, eine Erklärung, die zu weiteren Untersuchungen anregt, da ich, wie schon erwähnt, in der Tat in gänzlich chininfreier Kultur Parasitenformen fand, die zum Teil an Chininformen erinnerten. Das Chinin wirkt de facto nur auf die in der Zirkulation befindlichen Parasiten ein, aber nicht auf die in den Kapillaren befindlichen. Jedenfalls war ein Einfluß des Chinins auf Parasiten, die z. B. in Gehirnkapillaren lokalisiert sind, nach meinen eigenen Erfahrungen in Grosseto nicht im geringsten zu erkennen, selbst wenn man endovenöse Applikation des Chinins wählte.

Untersuchungen anderer Autoren über Malariaparasitenkultur.

Nach den sensationellen Mitteilungen von Bass versuchten auch andere Autoren die Kultur der Malariaparasiten in vitro zu erreichen. Unter den ersten, die etwa gleichzeitig mit mir diese Versuche begannen, waren Thomson und McLellan (18), die am 30. Dezember 1912 eine Mitteilung veröffentlichten, wonach ihnen die Kultur einer Generation des Perniziosaparasiten gelungen sei. Sie versetzten aber $^1/_{10}$ ccm einer 50%igen Dextroselösung nicht mit 10 ccm Malariablut, sondern mit 8 ccm und hielten die Kultur bei 38°. Vor Anlegung der Kultur zeigten die Plasmodien einen Durchmesser von ungefähr 3 μ und meistens Ringform. Nach 25 Stunden im Brutschrank waren schon Teilungsformen zu bemerken. Der Durchmesser derselben betrug 7—8 μ. Als bemerkenswert führten sie an, daß die Parasiten in ihren Kulturen die Neigung zeigten, zusammenzuklumpen. In einem zweiten Falle, bei dem vorher Chinin gegeben worden war, kam es nicht zur Sporulation in der Kultur.

Lavinder (19), der Plasmodium malariae nicht kultivieren konnte, brachte es bei Kultur des Perniziosaparasiten zwar zur Sporulation, indes kamen die jungen Merozoiten nicht zur Entwicklung in den roten Blutkörpern.

Joukoff (20) will auch die Sporogonie der Malariaparasiten in vitro erzeugt haben. Er versetzte Malariablut, und zwar je $2^1/_2$ ccm mit $^1/_2$ ccm einer 10%igen Natrium citricum-Lösung, erhitzte auf 41° während einer halben Stunde und hielt dann

die Kultur bei 25—26°, worauf die ersten Stadien der Sporogonie, Befruchtung der weiblichen Gameten und Ookinetenbildung beobachtet sein sollen. Er will die lebende Kultur drei Tage lang beobachtet haben. Bei einem Fall von Infektion mit Plasmodium malariae versetzte er je 4—5 ccm Malariablut, welches mit Zitronensäure versetzt war, mit 1½—2 ccm v. Lockescher Flüssigkeit und beobachtete in der Kultur nach erfolgter anfänglicher Erwärmung auf 41° am sechsten Tage angeblich sogar Sporozoiten. Man wird auf weitere Mitteilungen von J. gespannt sein müssen. Ich selber konnte meine Absicht, Malariaparasitenkulturen mit dem Mageninhalt von Mücken, speziell Anophelinen zu versetzen, nicht zur Ausführung bringen, da ich seinerzeit hier keine Anophelinen erhalten konnte, da dieselben die Keller usw. schon verlassen hatten. Man kann aber schon jetzt sagen, daß es sehr schwer, wenn nicht unmöglich sein wird, bakterienfreie Parasitenkulturen bei Zusatz von Mückenmägen zu erhalten. Es ist aber eventuell möglich, daß es bei Anwendung einer ähnlichen Technik, wie sie Rodhain, Pons, Vandenbranden und Bequart (21) anwandten, um Glossinen zum Saugen von Trypanosomenblut im Reagenzgläschen zu bringen, es auch gelingen wird, Anophelinen zum Saugen von Kulturmalariablut zu bringen bzw. nach Fülleborns geistvollem Vorschlag nach Abschneiden des Stechrüsselendes[1]).

II. Kultur von Piroplasmen (Piroplasma canis).

Die Mitteilungen von Bass über die Kultur der Malariaparasiten veranlaßten mich schon Dezember 1912, den Versuch zu machen, auch Piroplasma canis zu kultivieren. Es zeigte sich bald, daß die einfache Übertragung der Vorschriften von Bass auf die Kultur von Piroplasma canis durchaus nicht immer zum gewünschten Ziele führen wird.

Zwar hatten schon frühere Untersucher angegeben, Entwicklungsformen von Piroplasma canis in Kulturen gesehen zu haben (Kleine (13), Nuttal (14); vgl. nähere Literatur bei Ollwig und Manteuffel [1]). Kleine hatte physiologische NaCl-Lösung zu gleichen Teilen mit Piroplasmablut gemischt und steril im Reagenz-

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Thomson und Fantham (22) haben neuerdings ebenfalls eine Generation des gewöhnlichen Tertianaparasiten in der Kultur sich entwickeln sehen, in fünf Tage alter Kultur möglicherweise auch die Bildung von Tertianagameten aus Merozoiten. Vgl. meine obige, völlig sichere Beobachtung von Entwicklung der Halbmonde aus Merozoiten in 4—5 Tagen. Vgl. auch die junge Kultur Tertiana-Gameten (Tafel I).

glas bei 27° aufbewahrt, indes handelte es sich bei den von ihm beobachteten Stechapfelformen zweifellos nicht um solche der Schizogonie. Am ehesten erinnerten dieselben noch an gewisse Entwicklungsstadien von Piroplasma bigeninum in der Zecke, wie sie seinerzeit R. Koch (12) beschrieben hatte. Hartmann (18) faßte die von Kleine und Nuttal gesehenen Formen überhaupt als degenerierende auf. Ich gehe hier natürlich auf die Morphologie der Piroplasmen nicht näher ein und verweise auf die glänzenden Untersuchungen von Nuttal und die letzte zusammenfassende Arbeit von Ollwig und Manteuffel.

Anfangs verliefen meine Versuche resultatlos und kosteten viel Zeit und Arbeit. Bei den Impfungen kam es zuerst entweder nur zu äußerst spärlicher Infektion des peripheren Blutes mit folgender Immunisierung des Hundes, oder die Infektion führte zum Exitus, ehe es zu reichlicher Parasitenentwicklung gekommen war. Erst später, nach manchen Versuchen, sah ich, daß es durchaus verkehrt ist, schwer erkrankte Hunde mit zahlreichem Parasitenbefunde für die Kultur zu verwenden. Am besten eignen sich Hunde, bei denen die Parasiten eben erst im peripheren Blute auftreten und bei denen es noch nicht zu hochgradiger Blutveränderung gekommen ist. Genau wie bei Schwarzwasserfieber nach Malaria, wobei die endoglobulären Parasiten an den Folgen ihrer eigenen hämolytischen Wirkung sterben, verschwinden nämlich auch bei Piroplasmahämolyse die Piroplasmen meist sehr schnell. Hat man nur größere Hunde (d. h. über 3—4 Monate alte) zur Verfügung, empfehle ich, die Hunde zu entmilzen und ihnen 3—4 Tage nach der Operation noch Blut zu entnehmen, d. h. je nach der Größe ca. 30—50 ccm aus der Vena jugularis, um eine vorübergehende Anämie zu erzeugen. Dann gelingt die Infektion immer. Die ersten bakterienfreien Kulturen gelangen Januar 1913[1]).

Ähnlich wie bei der Kultur des Tertiana- und Perniziosaparasiten variierte ich die Versuche außerordentlich zahlreich, indem das Piroplasma canis-Blut versetzt wurde mit menschlicher Aszites- und Lockesflüssigkeit, menschlichem Blutserum, Hundeblutserum, Pferdeblutserum, alle diese zum Teil inaktiviert, zum Teil nicht in-

[1]) Vgl. Vortrag darüber in der Mikrobiologischen Vereinigung Berlin, 13. März 1913, bez. Nr. 21.

aktiviert und zum Teil versetzt mit Natrium citricum in steigender oder fallender Menge, ferner, indem die Kulturen bei Zimmertemperatur, bei 37 und 40° gehalten wurden. Es ergaben sich so äußerst zahlreiche Protokolle. Ich möchte bemerken, daß die günstigsten Resultate bisher

bei folgender Technik

erzielt worden sind: Man legt bei einem jungen, kräftigen Hund die Karotis frei und entnimmt Blut mittels einer sterilen Glaskanüle, läßt das Blut in graduierte Zylinder mit schmalem Halse laufen, defibriniert gerade hierbei lange und vorsichtig, da Hundeblut erst spät und dann sehr schnell gerinnt, wobei man es vermeidet, Luftblasen zu erzeugen, entfernt das Fibringerinnsel und setzt auf je 10 ccm Blut $^2/_{10}$ ccm 50%ige Dextroselösung zu, ferner auf je 10 ccm Blut 0,3 ccm einer 2%igen Natrium citricum 0,85 NaCl-Lösung[1]). In einer Anzahl von Fällen scheint der Natr. citric.-Zusatz weniger empfehlenswert zu sein, was man daher ausprobieren muß. Man zentrifugiert dann wie bei der Malariaparasitenkultur und pipettiert aus der Mitte bzw. Tiefe der Zentrifugenröhrchen leukozytenfreies Piroplasmablut auf den Boden von Serumröhrchen, die mindestens 5 cm hoch vorher mit inaktiviertem (Natrium citricum-)Dextrosehundeblutserum bzw. (Natrium citricum-)Dextroseaszitesserum beschickt waren. Es ist sehr zweckmäßig, für die Anlage von Kulturen und Subkulturen sich schon vor der Blutentnahme des piroplasmakranken Hundes das möglichst frische normale Dextrose-(Natrium citricum-)Hundeblut- bzw. menschliche Aszitesserum zu inaktivieren, um das Material schnell aufarbeiten zu können. Speziell bei Piroplasmakultur konnte ich übrigens auch trotz Erhaltenbleibens der Leukozyten prachtvolle Vermehrung der Piroplasmen finden. Inaktiviertes menschliches Dextroseblutserum schien zuweilen ebenso gut zu wirken wie inaktiviertes Menschen-Dextrose-Aszites- bzw. Hundeblutserum, am schlechtesten inaktiviertes Dextrose-Pferdeblutserum, noch schlechter als Dextrose-Locke-Serum.

Zweckmäßigerweise wählt man die Schicht der zu übertragenden roten Blutkörperchen nicht zu dünn. Im übrigen verweise ich auf die früheren Angaben bei der Kultur der Malariaparasiten. Man kann auch bei 40° Kulturen bekommen, ebenso bei Zimmer-

[1]) Speziell bei Piroplasmahämolyse dauert der Eintritt der Gerinnung sehr lange.

temperatur, und dabei deutliche Vermehrung der Parasiten sehen, indes die kräftigste Entwicklung der Parasiten, speziell auch des Chromatins und überhaupt der Schizogonie, sah ich bei 37°. Es ist erstaunlich, wie oft schon nach 24 Stunden in der Kultur eine außerordentliche Vermehrung der Parasiten auftritt, dies in Blut, das im Hunde selber erst äußerst spärliche Infektion zeigte. Während man Sporulationsformen von Piroplasma canis im peripheren Blute mit mehr als vier Merozoiten nur äußerst selten sieht, sind in gelungenen Kulturen Schizogonieformen mit 16 und mehr Merozoiten durchaus nicht selten (vgl. T. I, Nr. 16). Für die einfache weitere Konservierung der Piroplasmen, wenn man keine kräftige Schizogonie haben will, scheint die Aufbewahrung bei Zimmertemperatur günstig zu sein. Es fanden auch systematische Versuche statt, ob die Kultur besser gelingt nach voraufgegangener Fütterung der Hunde oder nicht. Vielleicht, daß die voraufgegangene Fütterung des betreffenden Hundes für die Kultur etwas günstigere Resultate schafft. Sehr erheblich scheint der Unterschied nicht zu sein, wenn man die von mir empfohlene größere Dextrosemenge dem Kulturblut zusetzt. Nur selten glaube ich in Kontrollkulturen ohne Dextrosezusatz bei 37° während der ersten 24 Stunden schwache Vermehrung gesehen zu haben mit meist kümmerlicher Entwicklung des Chromatins und baldigem Absterben der Parasiten.

Es gelang auf die obengeschilderte Weise, die Kulturen mehrfach bis zum fünften und sechsten, ja einmal bis zum 16. Tage lebend zu erhalten, indes treten eventuell wegen Erschöpfung des Nährbodens bzw. Toxinbildung in der Kultur schon am zweiten Tage einzelne Degenerationsformen auf, die vom dritten Tage ab häufiger werden. Jedenfalls ist die Vermehrung am ersten Tage am stärksten. Es gelang mir jedoch noch von vier Tage alter Subkultur, die von einer zwei Tage alten Kultur geimpft war, einen Hund durch intravenöse Injektion in die Vena jugularis schwer zu infizieren, ferner auch noch von fünf Tage alter Kultur[1]). Diese Feststellung ist eventuell wichtig und bedeutet, daß die Virulenz der Parasiten in der Kultur erhalten bleibt. Es gelang mir auch einmal, Subkulturen von vier Tage alter Kultur

[1]) Letzthin noch von 16 Tage alter Kultur, die bei Aufbewahrung bei 20—24° C äußerst zahlreiche, nur zum Teil degenerierende Piroplasmen bis zuletzt aufwies. Die mögliche Lebensdauer der Kulturen wird wahrscheinlich noch größer sein.

anzulegen. Am besten legt man Subkulturen von ein oder zwei Tage alter Kultur an. Neuerdings erwies sich sogar noch eine vier Tage alte Subkultur, die durch Kokken und Sproßpilze verunreinigt war, bei intravenöser Verimpfung als virulent. Es ist hiernach nicht unwahrscheinlich, daß dann auch die Malariaparasitenkulturen ihre Virulenz behalten. Das ist ja gerade das Interessante und Wichtige an diesen Feststellungen, daß die Malariaparasiten und Piroplasmen in der Kultur ihre morphologischen und biologischen Eigenschaften behalten, während Leishmania und vielfach auch Trypanosomen, wenn sie in der Kultur unter abnorme Lebensbedingungen versetzt werden, zum Teil neben der Virulenz auch ihren früheren morphologischen Charakter verlieren. Wenn indes das Bakterienwachstum in einer Kultur schon länger als 24 Stunden dauert, tritt, wie bei den Malariaparasitenkulturen, meist ein schnelles Absterben der Parasiten ein. Wenn Degeneration eintritt, verlieren die Piroplasmen ihre typische Birnen- bzw. amöboide Form, werden rundlich, der Plasmaleib färbt sich meist dunkler als bisher, während die Färbbarkeit des Chromatins mehr und mehr aufhört. Gleichzeitig können sich Teile des Plasmaleibes ablösen in Form kleiner Klümpchen oder Fädchen, worauf die degenerierten Parasiten eine Beute der Leukozyten werden.

Infektion der Kultur durch Sproßpilze und gewisse Kokken wirkt, wie bei den Malariaparasiten, nicht entfernt so schädlich und schnell wie die durch Bakterien, indem einmal noch fünfmal 24 Stunden nach erfolgter Infektion durch Torula die Piroplasmaparasiten deutlich erhalten waren. Die Vermehrung schien allerdings schnell aufzuhören. Im übrigen verhielten sich die Kulturpiroplasmen so wie die des peripheren Blutes, nur daß sie, wie erwähnt, noch viel schönere Schizogonieformen mit oft viel mehr Merozoiten aufwiesen. Auch die prozentuale Verteilung der sogenannten Birnen- und der amöboiden Formen (eventuell geschlechtliche und ungeschlechtliche Formen) ebenso der endo- und extraglobulären war dieselbe wie im peripheren Blute. Zeichen einer Sporogonie konnten auch bei Aufbewahrung bei Zimmertemperatur nicht beobachtet werden; indes sollen Versuche bei 22—24° C noch wiederholt werden[1]). Abge-

[1]) In 9—10 Tage alten Kulturen habe ich zuweilen auch geblähte extraglobuläre Piroplasmen gesehen mit einem äußerst zart bläulich (fast hyalin) gefärbten Plasma, aber deutlich entwickeltem Chromatin, letzteres stäbchen-, kokken-,

storbene Piroplasmakulturen wirkten, zwei gesunden Hunden subkutan eingespritzt, bisher nicht schützend gegen virulente Kulturen. Da indes nachträglich Torula, wenn auch in geringer Zahl in den beiden abgestorbenen Kulturen gefunden wurden, sind diese Versuche noch zu wiederholen. Schon jetzt kann mitgeteilt werden, daß in einem Falle im Kulturblut von einem Hunde mit akuter Piroplasmose, welches mit Blut eines äußerlich gesund scheinenden, gegen Piroplasmose scheinbar schon immunisierten Hundes versetzt wurde, keine Weiterentwicklung der Parasiten zu sehen war, während dies in Kontrollversuchen mit gesundem Hundeblut der Fall war. Indes wäre zu berücksichtigen, daß, ähnlich wie auch bei Malaria, nicht jedes Hundeblut sich zur Anlegung von Subkulturen eignet. Bemerkenswerter dürfte schon sein, daß nicht inaktiviertes Hundeserum des oben erwähnten relativ immunisierten Hundes schneller lytisch auf Piroplasma canis zu wirken schien als nicht inaktiviertes normales Hundeserum. Natürlich sind die Versuche noch zu wiederholen und sicher auch unter Zusatz von Dextrose und Natrium citricum 0,85 NaCl-Lösung.

Wie schon bei der Malariaparasitenkultur angedeutet, gelang es einmal auch, eine erfolgreiche Piroplasmakultur anzulegen von dem Blut eines Hundes, der erst zwei Tage vorher geimpft war und bei dem im peripheren Blute noch keine Piroplasmen zu sehen waren (infolge der noch zu geringen Zahl). Nur eine mäßige, jetzt erst eingetretene Polychromatophilie ließ die doch schon eingetretene Infektion ahnen. Weitere Untersuchungen müssen lehren, ob eine derartige Anreicherung der Parasiten in der Kultur praktische Bedeutung gewinnen kann. Wünschenswerter wäre schon der oben erwähnte serologisch-diagnostische Nachweis.

Erwähnt sei zum Schluß, daß für die bisherigen Versuche im ganzen 41[1]) infizierte (außer gesunden) Hunde verwandt wurden. Bei 5 von diesen fanden wiederholt Impfungen statt, wenn die erste nicht gleich Erfolg gegeben hatte, so daß die wirkliche Inkubation hier nicht mit Sicherheit festzustellen ist. Bei den übrigen, bei denen tägliche Blutkontrolle stattfand, war die Inkubationszeit bei subkutaner Impfung von 6—10 ccm Blut

zuweilen auch ringförmig mit zentraler oder peripherer Lage. Zuweilen war auch ein zweiter Kern angedeutet, in Form eines zarten Stäbchens mit deutlicher Chromatinfärbung.

[1]) Anmerkung bei Korrektur: Im ganzen bisher 48.

in	5	Fällen	2 Tage
„	7	„	3 „
„	4	„	4 „
„	4	„	5 „
„	2	„	6 „
„	4	„	7 „
„	1	Falle	20 „

Die Inkubation war bei endovenöser Impfung von 2 Tage alter Kultur bzw. Subkultur einmal 4 Tage, einmal 5 Tage, einmal 7 Tage (es trat in letzterem Falle sofort auch Hämolyse auf), von 3 Tage alter Kultur bzw. Subkultur einmal 4 Tage, einmal 5 Tage, von 4 Tage alter Kultur bzw. Subkultur einmal 2 und einmal 5 Tage, von 5 Tage alter Kultur einmal 3 Tage, einmal 6 Tage[1]).

Im ganzen kam es bei 9 Hunden zu akuter Hämolyse, darunter bei sämtlichen (4), denen die Milz vorher entfernt worden war. Es deutet dies eventuell darauf hin, daß mit der Milzentfernung ein gegen Hämolyse schützendes Moment wegfiel.

Über weitere serologische Untersuchungen und solche über eventuelle Fütterungsversuche von Hundeflöhen und Zecken mit Piroplasmakulturblut muß später berichtet werden. Es ist mit Sicherheit zu erwarten, daß die obigen Untersuchungen sich auch für die anderen, ganz nahe verwandten Piroplasmen, speziell auch Piroplasma bigeminum, verwenden lassen werden. Piroplasma bigeminum stand mir leider zurzeit nur nicht zur Verfügung. Andere Untersuchungen verhinderten das Aufsuchen meines früheren Arbeitsfeldes über Rinderpiroplasmose in Oldenburg, wo ich seinerzeit ohne Kenntnis der gleichgerichteten Untersuchungen Jackschaths die Rinderpiroplasmose in Deutschland feststellte (3).

Zusammenfassung.

Kultur von Piroplasma canis in vitro ist möglichst bei Zimmertemperatur, bei 37° und 40°, am besten bei 37°, wenn man je 10 ccm Piroplasma canis-Blut versetzt mit 0,2 ccm 50%iger Dextroselösung, zur Kontrolle (vgl. oben) ein Teil auch mit 0,3 ccm 0,2 Natrium citricum 0,85 NaCl, defibriniert, und das durch ent-

[1]) Nachtrag bei der Korrektur: Von 16 Tage alter Kultur einmal 6 Tage.

sprechendes Zentrifugieren von Leukozyten möglichst befreite infizierte Blut überträgt auf den Boden von Reagenzröhrchen, die vorher mindestens 5 cm hoch gefüllt sind mit inaktiviertem Dextrose- (Natricum citricum-) Hundeblutserum bzw. inaktiviertem Dextrose- (Natrium citricum-) Aszitesserum. Am besten gelingt die Kultur mit Hunden am ersten Tage des Auftretens der Piroplasmen im peripheren Blute. Selbst 16 Tage alte Kultur und vier Tage alte Subkultur, die in diesem Falle bei Zimmertemperatur aufbewahrt war, erwies sich für Hunde noch virulent. Kulturpiroplasmen verhielten sich völlig identisch wie die des peripheren Blutes. Das heißt, es wurden auch in der Kultur Birnenformen, einfach oder paarig, amöboide, ringförmige und kugelige, teils endo-, teils extraglobulär beobachtet, niemals aber echte Geißelformen, wie sie Bowhill und Le Doux (10) angeblich beobachteten. Wegen eintretender Erschöpfung des Nährbodens sind zur Weiterzüchtung Subkulturen nötig. Bei der Schizogonie kommt es in der Kultur im Gegensatz zum peripheren Blute oft zur Bildung von 16 und mehr Merozoiten in einem roten Blutkörper. Die bakterien- und pilzfreie Kultur scheint Anreicherung der Parasiten, auch im Latenzstadium der Piroplasmose, zu ermöglichen. Auch ältere Hunde können durch Entmilzung empfänglich für Infektion gemacht werden. Für das Auftreten von Toxinen in der Piroplasmakultur sprach, daß, wenn man gesundes Hundeblut mit $^1/_{10}$ Volumen Piroplasmablut zur Anlegung von Subkulturen mischte, in bisher normalen roten Blutkörpern zum Teil deutliche Polychromatophilie auftreten konnte.

Die vorstehende Arbeit ist ermöglicht durch eine von Sr. Exzellenz dem Herrn Staatssekretär des Reichskolonialamtes gewährte gütige Beihilfe, wofür ich demselben auch an dieser Stelle gehorsamst danke.

A. Literatur über Kultur der Malariaparasiten.

1. Laveran, A., Traité du Paludisme. 1898.
2. Coronado, T. V., Chron. méd. quar. de la Habana, 1891, Bd. 17, S. 280, 1893, Bd. 19, S. 374.
3. Plehn, F., Malariastudien. Berlin 1890.
4. Thayer, W. S., Lectures on the Malarial fevers. New York 1901.
5. Ziemann, H., Über Malaria- und andere Blutparasiten usw. G. Fischer. Jena 1898.
6. Schaudinn, F., Studien über krankheitserregende Protozoen. Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, 1902, Bd. 19.

7a. Bass, C. C., A new conception of immunity, its application to the cultivation of protozoa and bacteria from the blood and to blood and to therapeutic measures. Journ. Am. Med. Ass., 1911, S. 1534.
7b. Bass, C. C., Neue Gesichtspunkte in der Immunitätslehre, ihre Anwendung bei der Kultur von Protozoen und Bakterien im Blute und zu therapeutischen Zwecken. Übersetzung. Archiv f. Schiffs- u. Tropenhygiene, Bd. 16, S. 117.
8. Bass, C. C., On the cultivation of malarial parasites in vitro by preventing the development of complement in the human blood employed. Journ. Trop. Med. and Hyg., 1911, Bd. 14, Nr. 22 vom 15. November.
9. Bass, C. C., Successful Cultivation of Malarial Plasmodia. Journ. Am. Med. Ass., 1912, 21. September.
10. Olpp, Die Reinkultur der Malariaparasiten nach Bass und Johns. Münch. med. Wochenschr., 1912, S. 2623—2625.
11. Ziemann, H., Über die Basssche Kultur der Malariaparasiten in vitro und die daraus sich ergebenden Resultate. Zentralbl. f. Bakt. Originale, 1913, Bd. 67, S. 482—489.
12. Bass, C. C., and Johns, F. M., The cultivation of Malarial Plasmodia (Plas. vivax and Plas. falciparum) in vitro. Journ. of Experim. Medicine, 1912, Bd. 16, S. 367. Vgl. auch Jour. Am. Ass., 1912, 21. September.
13. Ziemann, H., Über die künstliche Weiterentwicklung (in vitro) des Tertianmalariaparasiten. Dtsch. med. Wochenschr., 1913, Nr. 6.
14. Ziemann, H., Nachtrag zu obigem Aufsatz. Dtsch. med. Wochenschr., 1913, Nr. 8.
15. Craig, C. F., in Osler, W. and McCrae, T., A System of Medicine. London 1907, Bd. 1, S. 408.
16. Rowley-Lawson, Mary, The cause of malarial anemia, and the intravascular migrations of the malarial parasite. Arch. of intern. med., 1912, S. 420—444.
17. Tachau, Hermann, Über den Zuckergehalt des Blutes. Dtsch. med. Wochenschr., 1913, Nr. 15, S. 686.
18. Thomson and McLellan (S. W. with a Note by Sir Ronald Ross), The Cultivation of one Generation of Malarial Parasites (Plasmodium falciparum) in vitro, By Bass's Method. Ann. Trop. Med. a. Parasit. 1912, Bd. 16, Nr. 4 vom 30. Dezember, S. 449—459.
19. Lavinder, C. H., A Note on the Cultivation of Malarial Plasmodia after the Method of Bass and Johns. Journ. Am. Med. Ass., 1913, Bd. 60, Nr. 1 vom 4. Januar, S. 42—43.
20. Joukoff, N. M., Culture du Parasite de la Malaria. Compt. Rend. Soc. Biol., 1913, Bd. 74, Nr. 3 vom 24. Januar, S. 136—138.
21. Rodhain, J., Pons, C., Vandenbranden, J., et Bequart, J., Contribution aus mécanisme de la transmission des trypanosomes par les glossines. Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg., 1912, H. 16, S. 732—739.
22. Thomson, J. G., und Fantham, H. B., The Cultivation of one generation of benign malarial parasites. Annal. of Trop. med. and parasitolog., 1913, S. 153—164.

B. Literatur über Piroplasmen (speziell Piroplasma canis).

1. Ollwig, H., und Manteuffel, P., Die Babesien. v. Prowazeks Handbuch der pathogenen Protozoen, 5. Lieferung, Ambrosius Barth, Leipzig 1912.
2. Ziemann, Über Malaria und andere Blutparasiten. Jena 1898.
3. Ziemann, Über das Vorkommen der seuchenhaften Hämoglobinurie in Deutschland. Dtsch. med. Wochenschr., 1901.
4. Ziemann, Piroplasma equi in Deutschland. Deutsche med. Wochenschr., 1902, S. 366.
5. Nocard und Motas, Contribution à l'étude de la piroplasme canine. Annal. de l'Institut Pasteur, 1902.
6. Theiler, Equine malaria and its sequelae. Journ. of comparat. Pathol. and Therap., 1902, Nr. 15.
7. Ziemann, H., Vorläufiger Bericht über das Vorkommen des Texasfiebers der Rinder in Kamerun (Westafrika), und Weiteres über die Tsetsekrankheit der Rinder, Schafe, Ziegen, Esel, Pferde, Maultiere, Hunde, sowie über Tiermalaria (der Schafe, Ziegen, Pferde, Esel). Dtsch. med. Wochenschr., 1903, Nr. 16.
8. Kossel, Weber, Schütz und Mießner, Über die Hämoglobinurie der Rinder in Deutschland. Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, 1904, Bd. 20.
9. Ziemann, Zur Bevölkerungs- und Viehfrage in Kamerun. Mitteilungen aus den deutschen Schutzgebieten, 1904, Bd. 17.
10. Bohwill und Le Doux, Contribution to the study of Piroplasma canis. Journal of Hygiene, 1904, Bd. 4.
11. Dschunkowsky und Luhs, Die Piroplasmen der Rinder. Zentralbl. f. Bakt., 1904, Bd. 35.
12. Koch, R., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Piroplasmen. Zeitschrift f. Hyg. u. Infektionskrankh., 1906, Bd. 54.
13. Kleine, Kultivierungsversuch der Hundepiroplasmen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr., 1906, Bd. 54.
14. Nuttal und Graham-Smith, Canine piroplasmosis. 1906, 3.
15. Ziemann, Über Lomadera, eine Art von Texasfieber in Venezuela. Dtsch. med. Wochenschr., 1902.
16. Kinoshita, Untersuchungen über Babesia canis. Arch. f. Protistenk., 1907/08.
17. Nuttal und Graham-Smith, The development of piroplasma canis in culture. Parasitology, 1908, Nr. 1.
18. Hartmann, Neuere Forschungen über pathogene Protozoen. Zweite Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Zentralbl. f. Bakt., 1908, Referate.
19. Dschunkowsky und Luhs, Entwicklungsformen von Piroplasmen in Zecken. Bericht über den internationalen tierärztlichen Kongreß im Haag, September 1909.

Nachtrag bei der Korrektur.

20. Knuth und Richters, Über die Vermehrung von Piroplasma in vitro. Berliner tierärztliche Wochenschr., 1913, Nr. 12.
21. Ziemann, H., Kurze Bemerkung zu dem vorstehenden Aufsatze von Knuth und Richters. Berliner tierärztliche Wochenschr., 1913, Nr. 16.

Erklärung zu Tafel 6.

Sämtliche Mikro-Lumière-Photos sind mit Vergrößerung 1:1000 aufgenommen, mit Ausnahme von Nr. 9 und 10, die ca. 1400fache Vergrößerung zeigen. Romanowsky-Ziemann-Färbung.

Nr. 1 und 4—8. Tertianaparasiten aus der Kultur, Nr. 2 und 3 aus dem peripheren Blute.

Nr. 1. Junger Tertianaparasit. 18. I., 10 Uhr vorm. aus der Kultur. Blut vom Patienten entnommen am 17. I., 6 Uhr nachm., ca. 6—10 Stunden vor dem Fieberanfall.

Nr. 2. Junger endoglobulärer Tertianaparasit aus dem peripheren Blut im Fieberabfall. (Deutliche Schüffnersche Tüpfelung.)

Nr. 3. Tertianaparasit aus dem peripheren Blut. 17. I., 6 Uhr nachm., s. Nr. 1 (ca. 6—10 Stunden vor dem Fieberanfall).

Nr. 4. Sporulierender Tertianaparasit aus Kultur. Pigment beginnt sich zu konzentrieren. 18. I., 10 Uhr vorm. Blut war entnommen am 17. I., 6 Uhr nachm. aus dem peripheren Blut.

Nr. 5. Junge Tertianamerozoiten. 18. I., 1—2 Uhr nachm. $2^1/_2$ Stunden älter als Nr. 4.

Nr. 6. Degenerierende Sporulationsform des Tertianaparasiten, ebenso alt wie Nr. 5. Chromatinentwicklung der Merozoiten kümmerlich.

Nr. 7. Degeneration weiter vorgeschritten. 18. I., 6 Uhr nachm. $4^1/_2$ Stunden älter als Nr. 5 und 6. Chromation staubförmig. Plasmafärbung nicht mehr deutlich.

Nr. 8. Junger Tertianaparasit ♀, aus der Kultur am 19. I., 6 Uhr nachm. Siehe den kräftig dunkelblau gefärbten Plasmaleib.

Nr. 9—15. Perniziosaparasiten aus der Kultur. Die Entwicklungsdauer konnte zwischen 24—48 Stunden schwanken.

Nr. 9. Perniziosaparasit. 16 Stunden alte Kultur. Pigment noch nicht entwickelt. Siehe Text.

Nr. 10. Perniziosaparasit. 30 Stunden alte Kultur. Ein dunkles Pigmentkorn deutlich sichtbar.

Nr. 11. Perniziosaparasiten. 40 Stunden alte Kultur. Dunkles Pigment konzentriert.

Nr. 12. Perniziosaparasiten. 43 Stunden alte Kultur. Deutliche Agglomeration einer Anzahl sporulierender Perniziosaparasiten, wie sie im peripheren Blute (wenigstens in Kamerun) nie beobachtet werden. Einige Parasiten (s. oben bzw. unten) deutlich in der Entwicklung noch zurückgeblieben.

Nr. 13. Perniziosaparasiten. Zirka 48 Stunden alt. Drei junge Merozoiten verlassen bereits den Mutterparasiten.

Nr. 14. Vier degenerierende Sporulationsformen des Perniziosaparasiten aus überalterter Kultur. Siehe Nr. 6 und 7.

Nr. 15. Halbmond aus sechs Tage alter Perniziosakultur.

Nr. 16. **Schizogonie in 24 Stunden alter Kultur von Piroplasma canis.** 16 Merozoiten in einem roten Blutkörper. Im peripheren Blut selten mehr als zwei, höchsten vier Parasiten in einem roten Blutkörper.

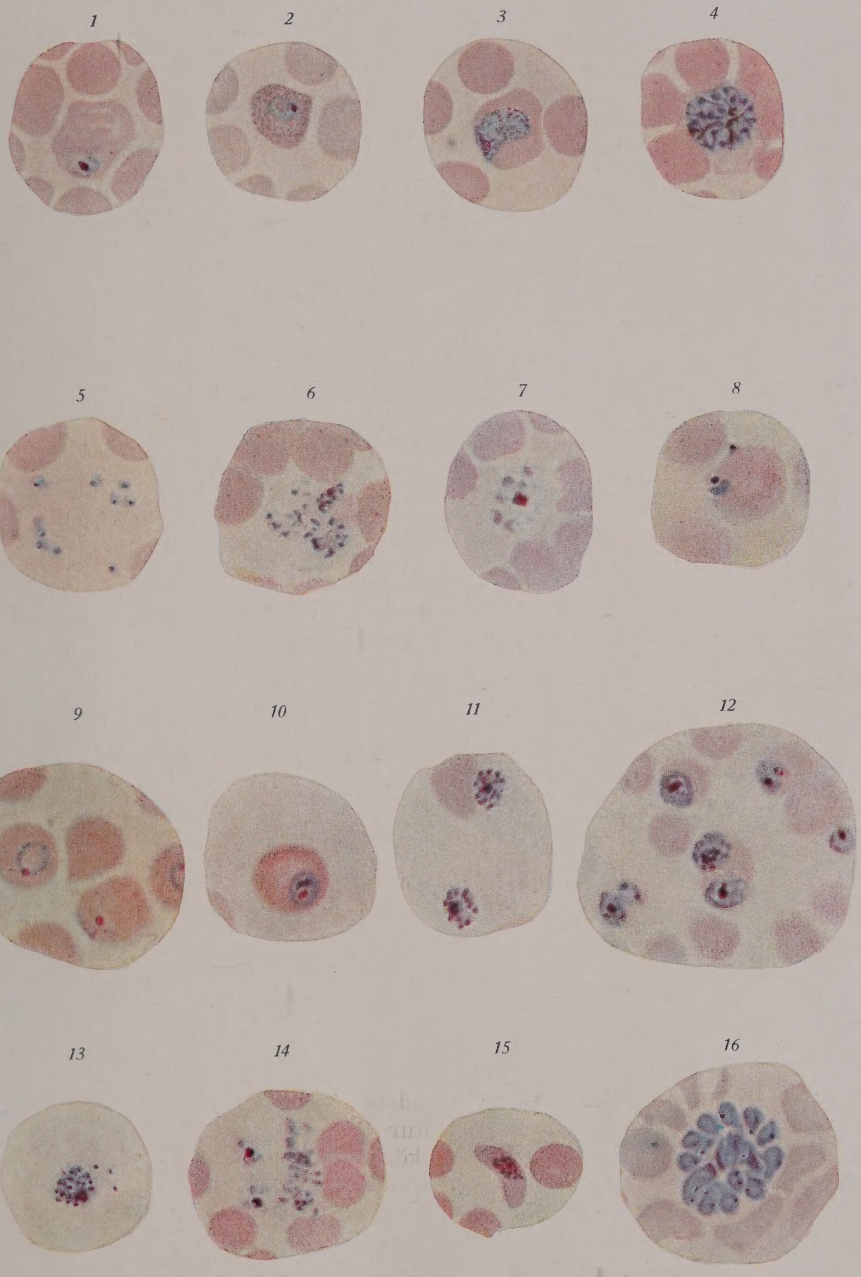
Nachtrag.

Nach meinen letzten vergleichenden Untersuchungen hat der **Dextrosezusatz** zu der Parasitenkultur in erster Linie **die Aufgabe, die Hämolyse** der roten Blutkörper in der Kultur **zu verhüten.** Die Parasiten sind angewiesen auf Schmarotzen in **nicht** hämolysierten roten Blutkörpern.

Meine frühere Hypothese, daß an durch Dextrose klebriger gemachten roten Blutkörpern die Merozoiten ev. auch besser haften könnten, steht damit nicht in Widerspruch. Betr. Literatur vgl. auch „Pirosomen“ von Schilling und Meyer in „Kolle, Wassermann.“

Zu dem Artikel: H. Ziemann:
Über die Kultur der Malariaparasiten und der Piroplasmen (Piroplasma canis) in vitro.

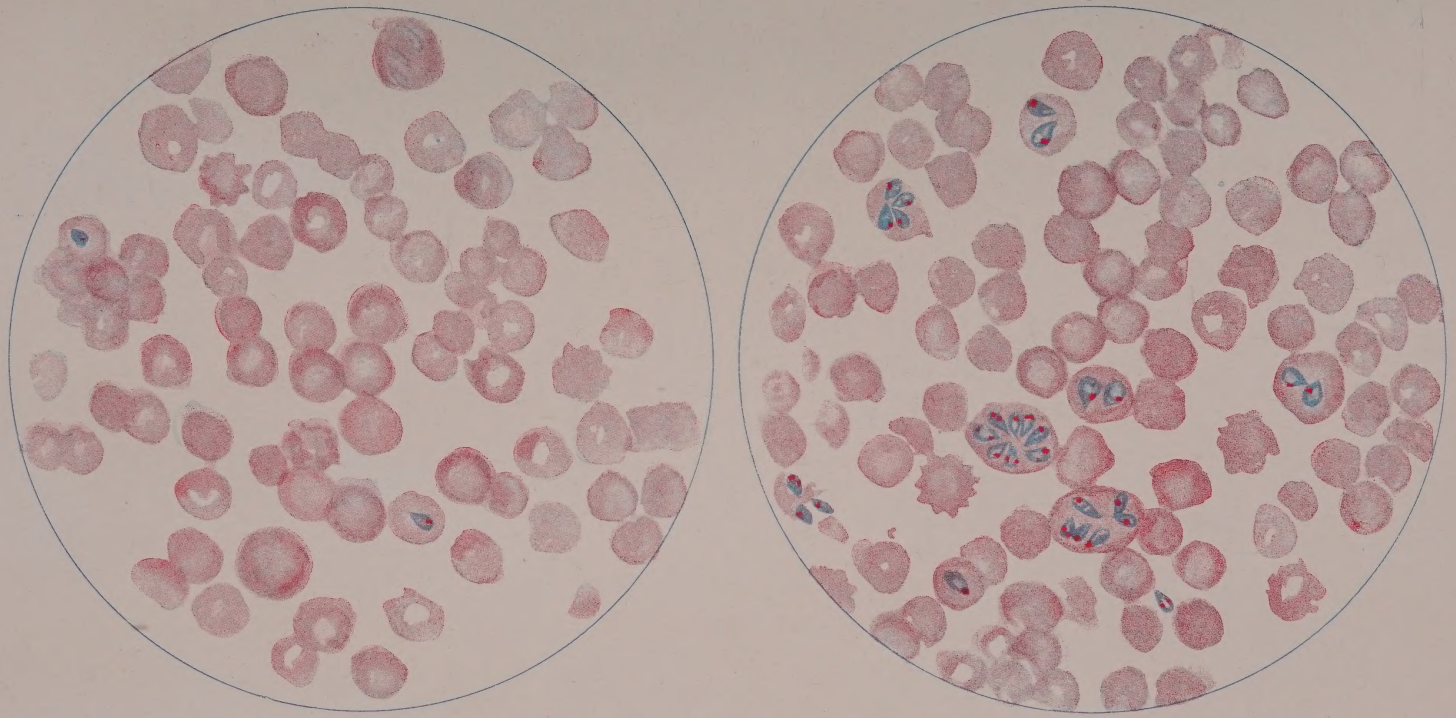
WELLCOME LIBRARY



Zu der Arbeit: Über die Kultur der Malariaparasiten und der Piroplasmen (piroplasma canis) in vitro von PROF. H. ZIEMANN.

Lumière Mikro-Photos. H. Ziemann-Meier.

Klischees und Druck von Dr. Trenkler & Co. Leipzig-St.



Vergleich des peripheren Blutbildes bei schwacher (eben beginnender) Infektion mit Piroplasma canis und desselben Blutes nach 24 Stunden Kultur bei 37° C im Brutschrank. Größe: O. Himmler, Öl-Immersion 2 mm, A. 1.3, Okular 4, Tubus 170 mm, Tischhöhe.
Zu dem Artikel: H. Ziemann: Über die Kultur der Malariaparasiten und der Piroplasmen (Piroplasma canis) in vitro.

Handbuch der pathogenen Protozoen. Unter Mitwirkung von P. Ehrlich, Frankfurt a. M., Fr. Fülleborn, Hamburg, G. Giemsa, Hamburg, R. Gonder, Frankfurt a. M., L. Halberstaedter, Berlin, M. Hartmann, Berlin, A. Leber, Göttingen, B. Lipschütz, Wien, Dr. Manteufel, Berlin, R. Maresch, Wien, M. Mayer, Hamburg, P. Mühlens, Hamburg, E. Neresheimer, Wien, B. Nocht, Hamburg, H. Ollwig, Daressalam, Dr. Reichenow, Hamburg, H. da Rocha-Lima, Hamburg, E. Rodenwaldt, Togo, C. Schellack, Berlin, O. Schröder, Heidelberg, A. Schuberg, Berlin, E. Teichmann, Frankfurt a. M., H. Werner, Hamburg, herausg. von S. von Prowazek in Hamburg.

Band I: (= Lieferung 1—4) VIII, 516 Seiten mit 6 farbigen und 7 schwarzen Tafeln und 205 Abbildungen im Text. 1912. M. 28.60, geb. M. 30.—.

5. Lieferung. 116 Seiten mit 2 farb. und 6 schwarzen Tafeln und 28 Abbildungen im Text. 1912. M. 7.20.

Weitere drei Lieferungen werden den II. Band bilden.

Zeitschrift für Immunitätsforschung. Schon die Inhaltsangabe zeigt, wie gediegen und gründlich dieses Handbuch der pathogenen Protozoen angelegt ist. Die einzelnen Protozoengruppen sind jeweils von Forschern, welche auf dem betreffenden Gebiete besondere Erfahrungen gesammelt haben und mit der Materie völlig vertraut sind, monographisch bearbeitet, und so dürfte hier ein Werk entstehen, welches dem Bedürfnis nach einer zusammenfassenden Darstellung des gegenwärtigen Standes der Protistenkunde voll und ganz gerecht wird.

Handbuch der Hygiene. 2. Aufl. in 8 Bänden. Unter Mitwirkung von vielen Fachgelehrten herausgegeben von Prof. Dr. Th. Weyl. Im Erscheinen. Prospekte auf Verlangen kostenfrei.

Das Handbuch der Hygiene, welches nunmehr in zweiter durchaus neu bearbeiteter Auflage zu erscheinen beginnt, soll das gesamte Lehrgebäude der öffentlichen Gesundheitspflege zusammenfassen.

Das auf 8 Bände berechnete Werk (etwa 400 Bogen) wird in Lieferungen erscheinen, deren Subskriptionspreis sich nach dem Umfange richten wird. Die Lieferungen sind auch einzeln zu einem etwas erhöhten Preise käuflich.

Es sind bis jetzt folgende Lieferungen des Gesamtwerkes erschienen:

Lief. 1 (Band III, Abt. 1): **Bedeutung der Lebensmittelpreise für die Ernährung** von Prof. Dr. Franz Eulenburg und **Nahrungsmittel** von Prof. Dr. Albert Stutzer. VI, 193 S. mit 28 Abb. 1912. Subskriptionspreis M. 7.20, Einzelpreis M. 9.—.

Lief. 2 (Band VI, Abt. 1): **Schulhygiene** von Prof. Dr. Leo Burgerstein und Dr. Aug. Netolitzky. 3. Aufl. XII, 548 S. mit 196 Abb. 1912. Subskriptionspreis M. 20.—, Einzelpreis M. 25.—, geb. M. 27.—.

Lief. 3 (Band III, Abt. 2): **Gebrauchsgegenstände** von Prof. Dr. Th. Weyl. II, 104 S. mit 1 Abb. 1912. Subskriptionspreis M. 3.60, Einzelpreis M. 4.50.

Lief. 4 (Band V, Abt. 1): **Einrichtung, Verwaltung und Betrieb der Krankenhäuser** von Franz Diesener. 196 S. mit 22 Abb. 1912. Subskriptionspreis M. 7.—, Einzelpreis M. 8.75, geb. M. 10.—.

Lief. 5 (Band II, Abt. 1): **Überblick über die historische Entwicklung der Städtereinigung bis zur Mitte des 19. Jahrhunderts** von Prof. Dr. Th. Weyl. **Verhütung von Rauch und Ruß in Städten** von Dr. L. Ascher und Direktor E. Kobbert. 75 S. mit 45 Abb. im Text. Subskriptionspreis M. 3.—, Einzelpreis M. 3.75.

Lief. 6 (Band II, Abt. 2): **Art und Menge der städtischen Abfallstoffe** von Prof. Dr. Th. Weyl. **Leichenwesen** von Prof. Dr. J. Kratter. **Abdeckereiwesen** von Direktor J. Goltz. 207 S. mit 29 Abb. im Text. 1912. Subskriptionspreis M. 7.20, Einzelpreis M. 9.—.

Lief. 7 (Band IV, Abt. 2): **Wohnung und Gesundheit** von Ferdinand Hueppe. **Wohnungsaufsicht** von A. Rath. 89 S. mit 7 Abb. im Text. 1912. Subskriptionspreis M. 3.20, Einzelpreis M. 4.—.

Lief. 8 (Band VI, Abt. 2): **Die Mutter- und Säuglingsfürsorge und die Fürsorge für das Kleinkinderalter** von Dr. Gustav Tugendreich in Berlin. **Geschlossene Kinderpflege auch Kinder-Krankenhäuser** von Dr. W. Birk in Kiel. **Öffentlicher Kinderschutz. Juristischer Teil** von Dr. jur. F. Rolffs in Charlottenburg. 265 Seiten und 27 Abbild. im Text. 1912. Subskriptionspreis M. 9.60, Einzelpreis M. 12.—.

Lief. 9 (Band VII, Besonderer Teil, Abt. 1): **Hygiene der Bergarbeiter** von Oberbergrat M. Herold in Freiberg i. S. und Geh. San.-Rat Dr. Lindemann in Bochum. **Hygiene der Arbeit in komprimierter Luft** von Dr. Philipp Silberstern in Wien. VIII und 273 S. mit 72 Abb. im Text. 1913. Subskriptionspreis M. 9.60, Einzelpreis M. 12.—.

Lief. 10 (Band III, Abt. 3): **Einzelernährung und Massenernährung** von Generalarzt Dr. W. Schumburg. VIII und 180 S. mit 15 Abb. im Text. 1913. Subskriptionspreis M. 7.—, Einzelpreis M. 8.75.

Deutsche medizinische Wochenschrift: Das altbekannte, bewährte Weylsche Handbuch erscheint in neuer Auflage. Dies Werk soll nicht nur den theoretischen Teil der Hygiene bringen, sondern sich auch mit der Praxis der Hygiene beschäftigen; es soll zeigen, wie sich die hygienische Wirtschaft im Leben betätigt. Dieses Streben geht auch deutlich aus dem Verzeichnis der Mitarbeiter hervor, wo neben den Theoretikern die Techniker und Verwaltungsbeamten reichlich vertreten sind. Die Hygiene kommt ohne die Technik und Berücksichtigung des sozialen pekuniären Momentes nicht aus, und die Verquickung der verschiedenen Faktoren, wie sie schon in der ersten Auflage hervorgetreten ist, kann nur dankbar begrüßt werden. Das praktisch angelegte Weylsche Buch wird seinen Weg machen, wenn die anderen Abschnitte mit den vorliegenden gleichwertig sind, und wenn sie in rascher Reihenfolge erscheinen.

Chirurgische Operationslehre. Unter Mitwirkung von F. v. Bramann, Halle, G. Killian, Berlin, R. Klapp, Berlin, F. König, Marburg, W. Körte, Berlin, H. Küttner, Breslau, E. Lexer, Jena, W. Müller, Rostock, A. Passow, Berlin, P. Poppert, Gießen, L. C. Rehn, Frankfurt a. M., O. Rumpel, Berlin, V. Schmieden, Berlin, O. Sprengel, Braunschweig, P. Sudeck, Hamburg, M. Wilms, Heidelberg, herausgegeben von August Bier, Berlin, Heinrich Braun, Zwickau, Hermann Kümmell, Hamburg.

II. Band. XVI, 860 S. mit 538 meist farb. Abbild. im Text. 1912. Geb. M. 40.—.

I. Band, Lief. 1: II, 150 S. mit 152 Abbild. im Text. 1913. M. 8.—.

I. Band, Lief. 3: II, 299 S. mit 196 meist farb. Abb. im Text. 1913. M. 14.—

I. Band, Lief. 2, erscheint im Herbst.

Der III. Band wird im Sommer 1913 ausgegeben.

Es wird hier eine große, alle gebräuchlichen Operationsmethoden darstellende Operationslehre geplant. Die hervorragendsten Mitarbeiter haben sich mit den drei Herausgebern vereinigt, um etwas wirklich Bedeutendes zu schaffen. Namentlich ist auf gute, meist zweifarbige Illustrationen Wert gelegt.

Dieudonné, Prof. Dr. **A., Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie.** 7. umgearbeitete Auflage. 8°. VII, 243 Seiten. 1911. M. 6.80, geb. M. 7.80.

Deutsche Militärärztliche Zeitschrift: . . . . Das Buch kann auch in der neuen Auflage denen, die sich schnell über die einschlägigen Fragen orientieren wollen, wärmstens empfohlen werden, zumal das Werk durch Anfügen einer Zusammenstellung der Technik der wichtigsten Immunitätsreaktionen und von kurzen Erklärungen der nicht ohne weiteres verständlichen Fachausdrücke aus der Immunitätslehre, sowie ein rasches Auffinden ermöglichendes Sachregister gerade den Bedürfnissen des den Fragen Fernstehenden gerecht wird.

Schmidt, Dr. **Heinrich**, Dr. **L. Friedheim**, Dr. **A. Lamhofer**, Dr. **J. Donat**, **Diagnostisch-therapeutisches Vademecum** für Studierende und Ärzte zusammengestellt. 11. Auflage. VI und 443 Seiten mit Abbildungen. 1913. Als Taschenbuch mit Bleistiftöse in abwaschbarem Leinen elegant gebunden M. 6.—.

Gebunden und mit Schreibpapier durchschossen M. 7.—.

Schmidt's Jahrbücher: Man kann nicht gut mehr des Tatsächlichen, Wissenswerten auf einen so knappen Raum zusammenfassen. Die Antworten, die der Unsichere erhält, sind überall klar und richtig.

Prowazek, Dr. **S. von, Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenuntersuchung.** 2. umgearb. Auflage. 87 Seiten. 1909.

Gebunden und mit Schreibpapier durchschossen M. 2.50.

Deutsche Mediz. Wochenschrift: Das von dem bekannten Protozoenforscher in erster Linie für Mediziner geschriebene Taschenbüchlein enthält eine gute Zusammenstellung der Untersuchungsmethoden der wichtigsten, vor allem aber der pathogenen Protozoen . . . Jeder, der sich mit Protozoenuntersuchungen beschäftigen will, findet in dem Büchlein das Wissenswerteste über Untersuchungsmethoden, meist mit Literaturangaben.

Haclesy & Sigismund, DDr. med., **Englisch für Mediziner.** Mit Aussprachebezeichnung von C. Just. VIII, 180 S. Geb. M. 4.—.

Olivier & Sigismund, DDr. med., **Französisch für Mediziner.** Mit Anhang: Französisches Leben von P. v. Melingo. VIII, 207 S. Geb. M. 4.—.

Le Boucher & Dr. Ricci, Italienisch für Mediziner. VIII, 192 S. Geb. M. 4.—.

Le Boucher und Dr. med. **Gieb y Boullón, Spanisch für Mediziner.** VIII. 192 S. Geb. M. 4.—.

Diese Bücher setzen da ein, wo die gewöhnlichen Sprachlehrbücher aufhören. Jedem Mediziner, der in Badeorten oder Städten mit Fremdenverkehr praktiziert, der in fremde Länder gehen oder als Schiffsarzt Anstellung nehmen will, können die Bücher bestens empfohlen werden.

Kühnemann, Dr. **Georg, Differential-Diagnostik der inneren Krankheiten.** Dritte umgearbeitete Auflage. VIII, 236 Seiten. 1911. Geb. M. 5.—.

Zentralblatt für innere Medizin: Der Verf. stellt mit großem Fleiß und eingehender Fachkenntnis auf 43 Tabellen symptomatisch ähnliche Krankheitsbilder zusammen und will damit dem Praktiker in zweifelhaften und schwierigen Fällen eine zuverlässige und rasche Orientierung ermöglichen. Außerdem gibt er im Text zu den in den Tabellen angeführten Krankheiten noch eine ausführlichere Symptomatologie und gute differentialdiagnostische Bemerkungen. Ein gutes Register erhöht den Wert des Buches, das wohl in manchen Fällen mit Nutzen gebraucht werden kann.

Tsuzuki, Dr. **J.**, Rat des Instituts für Beriberi in Tokio. **Antiberiberitherapie der Beriberikrankheit.** 71 Seiten. 1912. M. 2.20.

Die Beriberikrankheit ist eine bei allen hauptsächlich von Reis lebenden Nationen häufige Erscheinung. Sterben doch jährlich in Tokio allein 2000 Menschen daran. Der Verfasser, selbst Japaner, hat eine experimentelle Therapie aufgestellt und glaubt ein Mittel gefunden zu haben, um die Krankheit zu bekämpfen. In der vorliegenden Arbeit bespricht er den Einfluß der Ernährung auf Entstehung der Krankheit, seine Versuche und Erfolge. Das Buch ist für Tropenforscher von lebhaftem Interesse.

Druck von Grimme & Trömel in Leipzig.